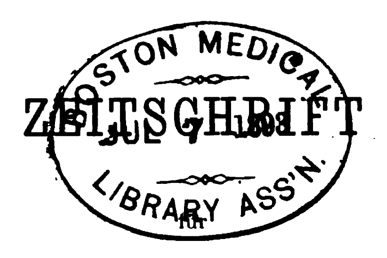




ZEITSCHRIFT

für

PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

Prof. E. BAUMANN in Freiburg, Prof. GÄHTGENS in Giessen, Prof. O. HAMMARSTEN in Upsala, Prof. HÜFNER in Tübingen, Prof. HUPPERT in Prag, Prof. JAFFE in Königsberg, Prof. E. LUDWIG in Wien, Prof. E. SALKOWSKI in Berlin und Prof. E. SCHULZE in Zürich

herausgegeben von

F. HOPPE-SEYLER,

Professor der physiologischen Chemie an der Universität Strassburg

SIEBZEHNTER BAND.

Mit zwei lithographischen Tafeln und neun Holzschnitten.

STRASSBURG

VERLAG VON KARL J. TRÜBNER

1893.

Inhalt des siebzehnten Bandes.

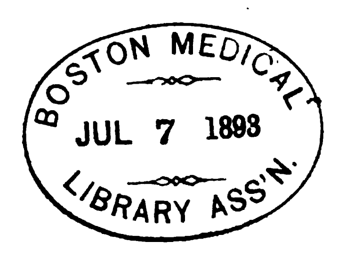
Heft I.

Heft II und III.

Heft IV.

Heft V.

Heft VI.



Ueber das physiologische Verhalten des Sulfonals.

Von

Dr. William J. Smith.

(Der Redaction zugegangen am 25. April 1892.)

Vor einigen Jahren habe ich gezeigt[1]), dass bei Eingabe von mässigen Dosen von Sulfonal die Ausscheidung des Stickstoffs im Harn nicht beeinflusst wird[2]). Auch die Ausscheidung der Schwefelsäure wird durch Darreichung von Sulfonal nicht verändert. Das Sulfonal selbst geht, wie Kast[3]) in seiner ersten Publication angibt, zum weitaus grössten Theile nicht unverändert in den Harn über, sondern wird in Form einer leicht löslichen organischen Schwefelverbindung ausgeschieden. Von Letzterer wurde bisher nur festgestellt, dass sie eine starke Säure ist, deren Salze, wie die Säure selbst, in Wasser und in Weingeist so leicht löslich sind, dass sie bis jetzt nicht rein erhalten werden konnten.

Die Frage, ob bei Hunden merkbare Mengen von Sulfonal in den Harn übergehen, habe ich früher durch Reindarstellung des im Harn enthaltenen Sulfonals zu beantworten versucht und bin auf diesem Wege zu einem durchaus negativen Resultate gelangt[4]). Bald nachher fand ich, dass nach Gaben von 3 gr. Sulfonal, wenn Letzteres völlig gelöst eingegeben wird, geringe Mengen von unverändertem Sulfonal in den Harn übergehen, und dass Spuren von Sulfonal auch schon nach kleineren Gaben des Mittels im Harn wiedererscheinen können. Diese Beobachtungen, welche meine früheren Angaben in einem Punkte berichtigen, sind schon von

---

1) Therapeut. Monatshefte, 1888, November.
2) s. Anmerkung am Schluss dieser Mittheilung.
3) Berl. klin. Wochenschr., 1888, No. 16.
4) L. c.

Baumann und Kast in ihrer Arbeit «über die Beziehungen zwischen chemischer Constitution und physiologischer Wirkung bei einigen Sulfonen» erwähnt worden[1]). Seitdem sind von anderer Seite Beobachtungen über die Ausscheidung von unverändertem Sulfonal im Harn von Menschen gemacht worden. So fand Jaffé bei einem von Neisser[2]) beschriebenen Vergiftungsfalle eines jungen Mannes, welcher ca. 100 gr. Sulfonal zum Zwecke des Selbstmordes eingenommen hatte, unverändertes Sulfonal in dem Harn. Trotz der enormen Menge des eingenommenen Sulfonals trat in diesem Falle völlige Genesung ein, welche wesentlich durch die zweckmässige Behandlung des Erkrankten, nämlich die Einführung grosser Wassermengen, welche aus dem Körper das resorbirte Sulfonal ausspülten, bedingt worden ist.

Neuerdings hat Jolles[3]) Bestimmungen des im Harn ausgeschiedenen Sulfonals bei solchen Personen ausgeführt, bei welchen in Folge von übermässigem Gebrauch von Sulfonal, oder von besonderen, noch nicht genauer bekannten, Complicationen der Sulfonalwirkung Vergiftungserscheinungen eingetreten waren. Jolles berechnete die Mengen des Sulfonals im Harn aus den Bestimmungen des Schwefelgehaltes im ätherischen Auszuge des Harns, und fand, dass der Harn unter den genannten Umständen in 100 cbcm. 0,003 bis 0,018 gr. Sulfonal enthielt.

Während die Erfahrungen von Jolles über den Uebergang unveränderten Sulfonals in den Harn nicht im Widerspruche mit den hier gemachten Beobachtungen sich befinden, stehen seine Angaben, dass beim Menschen nach Sulfonalgebrauch eine erhebliche Zunahme in der Ausscheidung der gebundenen sowohl als der präformirten Schwefelsäure erfolge, in directem Gegensatz zu dem von mir gemachten Beobachtungen, nach welchen selbst grosse Gaben von Sulfonal beim Hunde ohne jeden Einfluss auf die Ausscheidung der Schwefelsäure im Harn sind.

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. 14, S. 62 (1889).

[2]) Deutsche med. Wochenschr., 1891, No. 21.

[3]) Pharmac. Post, 1891, No. 52.

Tritt man der Frage näher, welche schwefelhaltige Producte bei der Spaltung des Sulfonals im Organismus gebildet werden können, so ergeben sich von vornherein eigentlich nur zwei Möglichkeiten. Die Spaltung des Sulfonals kann einmal in ähnlicher Art, wie sie bei manchen Substitutionsproducten des Sulfonals sehr leicht eintritt, durch die Stoffwechselprocesse bewirkt werden; in diesem Falle wäre das Umwandlungsproduct des Sulfonals, welches in den Harn übergeht, ohne Zweifel die Aethylsulfosäure. Die Spaltung des Chlorsulfonals und des Aethylsulfonsulfonals erfolgt, wie Stuffer[1]) und Antenrieth[2]) gezeigt haben, wenn diese Körper mit wässerigen Alkalien schwach erwärmt werden, in folgender Weise:

$$\underset{\text{Chlorsulfonal}}{\frac{CH_2Cl}{CH_3} > C < \frac{SO_2C_2H_5}{SO_2C_2H_5}} + 3\,KOH$$

$$= \underset{\text{Acetol}}{\frac{CH_2(OH)}{CH_3}} > CO + 2\,\underset{\text{äthylsulfins. Kali}}{KSO_2C_2H_5} + KCl + H_2O.$$

$$\underset{\text{Aethylsulfonsulfonal}}{\frac{CH_2(SO_2C_2H_5)}{CH_3} > C < \frac{SO_2C_2H_5}{SO_2C_2H_5}} + 3\,KOH$$

$$= \underset{\text{Acetol}}{\frac{CH_2(OH)}{CH_3}} > CO + 3\,\underset{\text{äthylsulfins. Kali}}{KSO_2C_2H_5} + H_2O.$$

Bei der Verseifung der Substitutionsproducte des Sulfonals wird also immer die Aethylsulfongruppe abgespalten, und zwar als Aethylsulfinsäure. Wenn eine solche Spaltung auch im Organismus eintritt, so ist jedenfalls ohne Weiteres gegeben, dass dabei die leicht oxydable Sulfinsäure in die Sulfosäure alsbald verwandelt wird.

Die zweite in Betracht zu ziehende Möglichkeit ist die, dass bei der Abspaltung der Aethylsulfongruppe zugleich eine Oxydation in der Aethylgruppe erfolge; das Product einer

---

[1]) D. Chem. Ges., Bd. 23, S. 3238.

[2]) Ebend., Bd. 24 S. 171.

solchen oxydativen Spaltung des Sulfonals würde die sehr beständige Sulfoessigsäure, $CH_2 < \frac{SO_2OH}{COOH}$, sein müssen.

Um die vorliegende Frage zur Entscheidung zu bringen, war es in erster Linie von Wichtigkeit, zu ermitteln, ob die Aethylsulfosäure und die Sulfoessigsäure selbst durch den Stoffwechsel verändert werden. Ueber das Verhalten der ersteren Säure liegt eine Beobachtung von Salkowski[1]) vor, welcher fand, dass die eingegebene Aethylsulfosäure im Harn zum grössten Theile wieder erscheint und die Schwefelsäure des Harns nur unbedeutend vermehrt.

Ein von mir ausgeführter Versuch ergab, dass nach Eingabe von 6 gr. äthylsulfosaurem Kalium bei einem 12,5 Kilo schweren Hunde überhaupt keine wahrnehmbare Vermehrung der Schwefelsäureausscheidung erfolgt. Der Hund erhielt täglich $^1/_2$ Kilo Hundezwieback und 1 Liter Wasser; am zweiten Tage der Beobachtung (7. Juni) bekam er mit dem Futter 6 gr. äthylsulfosaures Kalium.

Datum.	Harnmenge in 24 Stunden. cbcm.	Spec. Gew.	$BaSO_4$ aus 50 cbcm. Harn. gr.	Schwefel-ausscheidung in 24 Stunden in Form von Schwefelsäure[2]). gr.	Mittel:
6. Juni	414	1,029	0,1696	0,1928	0,188
7. »	404,5	1,025	0,1626	0,1808	
8. »	268	1,032	0,1911	0,1408	0,176
9. »	584	1,025	0,1579	0,2536	
10. »	375	1,025	0,1786	0,1340	

Da das Kalium- und das Natriumsalz der Aethylsulfosäure in Weingeist von 60—70 % sich leicht lösen, während beide Salze in kaltem absolutem Alkohol fast unlöslich sind, wurde versucht, aus dem weingeistigen Auszuge des eingedampften Harns das äthylsulfosaure Salz durch Behandlung mit absolutem Alkohol wieder abzuscheiden. Es gelang indessen nicht, Krystalle des Salzes aus dem Harn wiederzugewinnen;

[1]) Virchow's Arch., Bd. 66, S. 315 ff.

[2]) Sulfatschwefelsäure plus Aetherschwefelsäure.

die Krystallisation des Salzes wird offenbar durch die gleichzeitig vorhandenen Extractivstoffe völlig verhindert. Bei allen diesen Versuchen wurden gelb gefärbte syrupöse Substanzen erhalten, welche zwar reich an der schwefelhaltigen Verbindung waren, aber nicht so weit gereinigt werden konnten, dass sie krystallisirten.

Auch als 300 cbcm. Harn vom Menschen, welchem 6 gr. äthylsulfosaures Kalium zugesetzt waren, in gleicher Weise verarbeitet wurden, konnte das äthylsulfosaure Salz nicht wieder in reinem Zustande abgeschieden werden.

In dieser Hinsicht führten zu einem anderen Ergebnisse die mit der Sulfoessigsäure, $CH_2 < \begin{smallmatrix} SO_2OH \\ COOH \end{smallmatrix}$, ausgeführten Versuche. Diese Säure wurde nach dem Verfahren von Franchimont[1]) durch Erhitzen von Essigsäureanhydrid mit conc. Schwefelsäure auf 130° dargestellt. Aus dem in Wasser schwer löslichen Bariumsalz der Säure wurde das leicht lösliche Natriumsalz gebildet. Ein, wie oben angegeben, gleichmässig gefütterter kleiner Hund erhielt am 2. Juli 6 gr. des reinen Natriumsalzes mit dem Futter. Folgende Zusammenstellung der Schwefelsäureausscheidung im Harn vor und nach der Eingabe der Substanz zeigt, dass die Sulfoessigsäure im Organismus ebenso wenig gespalten wird, als die Aethylsulfosäure.

Datum.	Harnmenge in 24 Stunden. cbcm.	Spec. Gew.	$BaSO_4$ aus 50 cbcm. Harn. gr.	Schwefelausscheidung in 24 Stunden in Form von Schwefelsäure [1]). gr.	Mittel:
30. Juni	317	1,005	0,0645	0,0562	
1. Juli	192	1,025	0,2045	0,1079	0,0819
2. »	110	—	0,2698	0,0816	
3. »	217	1,017	0,1113	0,0664	
4. »	80	1,025	0,2278	0,0501	0,0694
5. »	199	1,030	0,2680	0,0916	

[1]) Compt. rend., Bd. 92. S. 1054.

Die Sulfoessigsäure bewirkte also keine Vermehrung der Schwefelsäureausscheidung. Um mich zu überzeugen, dass das eingegebene Salz wirklich resorbirt worden ist, habe ich die Gesammtschwefelausscheidung in dem Harn vom 2. und 3. Juli ermittelt, welche an dem Tage nach Eingabe des Salzes mehr als verdoppelt war:

Datum.	Harnmenge in 24 Stunden. cbcm.	Gesammtschwefelausscheidung in 24 Stunden	
		gr.	in Form von Schwefelsäure. gr.
2. Juli	110	0,1564	0,0816
(Nach Eingabe von 6 gr. sulfoessigs. Natron) 3. Juli	217	0,3361	0,0664

Dieser Beweis wurde noch sicherer geführt durch die Isolirung der Sulfoessigsäure in Form ihres Bariumsalzes aus dem Harn. Zu diesem Zwecke erhielt der Hund von Neuem 6 gr. sulfoessigsaures Natrium. Der an den drei folgenden Tagen entleerte Harn wurde auf $^1/_4$ seines Volums eingedampft, mit Alkohol gemischt und filtrirt. Dem weingeistigen Filtrat wurden ca. 10 cbcm. Chlorbariumlösung hinzugesetzt. Nach 4tägigem Stehen in der Kälte wurde der gebildete krystallinische Niederschlag abfiltrirt und aus heissem Wasser umkrystallisirt. Es wurden so 0,2063 gr. von dem in kaltem Wasser schwer löslichen sulfoessigsauren Barium, $CH_2 < \genfrac{}{}{0pt}{}{SO_2O}{COO} Ba + H_2O$, gewonnen.

0,1756 gr. des Salzes verloren bei 185° 0,0109 gr. = 6,21 % Wasser, und lieferten 0,140 gr. Bariumsulfat = 46,29 % Ba.

	Gefunden:	Berechnet für $CH_2 < \genfrac{}{}{0pt}{}{SO_3}{CO_2} > Ba + H_2O$:
Wasser	6,21 %	6,14 %,
Barium	46,29 %	46,75 %.

[1]) Sulfat- plus Aether-Schwefelsäure.

Die Wiedergewinnung der Sulfoessigsäure aus dem Harn ist somit — wenn auch mit Verlust an Substanz — nicht mit Schwierigkeiten verknüpft. Daraus geht aber auch hervor, dass die Sulfoessigsäure, wenn sie in den Harn als das Umwandlungsproduct des Sulfonals übergehen würde, dem Nachweise sich nicht wohl entziehen könnte.

Indessen ergab die Verarbeitung grösserer Mengen von Sulfonalharn nach dem oben geschilderten Verfahren keine Spur von Krystallen eines schwer löslichen Bariumsalzes. Jedenfalls kann die Sulfoessigsäure nicht das Hauptumwandlungsproduct des Sulfonals im Organismus sein.

Meine Versuche sprechen vielmehr dafür — wenn auch nur auf indirectem Wege —, dass bei der Spaltung des Sulfonals im Organismus Aethylsulfosäure entsteht, welche im Harn ausgeschieden wird.

Anmerkung. Martin Hahn (Virchow's Arch., Bd. 125, S. 182) glaubt, dass die von mir ausgeführten Versuchsreihen nicht beweiskräftig seien, weil an den einzelnen Tagen der einen Reihe erhebliche Schwankungen in der Stickstoffausscheidung auftreten. Diese Differenzen wurden dadurch bedingt, dass das Versuchsthier, welches den Harn von 24 Stunden nicht gleichmässig absonderte, nicht kathetrisirt wurde. Diese Differenzen haben sich aber in den auf je 8 Tage sich erstreckenden Beobachtungsreihen beinahe vollständig ausgeglichen. Aus seinen eigenen Versuchen, welche im Wesentlichen meine Resultate bestätigen, glaubte Hahn keinen bestimmten Schluss ziehen zu können. Ich schliesse auch aus diesem Umstande, dass meine Versuche nicht zu einem unrichtigen Ergebnisse geführt haben.

Laboratorium des Prof. Baumann, Freiburg i. B.

Bemerkung zu meinem Aufsatze: «Beiträge zur Kenntniss der Nucleine».

Von

Dr. Hans Malfatti.

(Der Redaction zugegangen am 4. Mai 1892.)

In dem im Titel genannten Aufsatze[1]) habe ich einen Versuch beschrieben, durch welchen dargethan wurde, dass Nucleinsäure, welche nach dem Altmann'schen Verfahren aus Liebermann'schem Nuclein dargestellt wurde, sich mit Guanin zu einer den natürlich vorkommenden Nucleinsäuren ähnlichen Verbindung vereinigen könne. Damals wurde ich durch das Herannahen der Ferien und bauliche Veränderungen im Laboratorium gezwungen, diese Versuche zu unterbrechen.

Als ich nun in diesem Jahre an die Fortsetzung der Versuche ging, habe ich noch einmal denselben Körper dadurch erhalten, dass ich die Lösung von künstlicher Nucleinsäure mit guaninhaltiger Salzsäure fällte. Auch diesmal zeigte sich der auffallende Umstand, dass die P-ärmeren, d. i. durch Essigsäure fällbaren Antheile des Präparates, wenig oder nichts von dem Xanthinkörper enthielten, die durch Salzsäure gefällten Antheile fast Alles.

Seit jener Zeit aber ist es mir nicht ein einziges Mal mehr gelungen, ein ähnliches Resultat zu erlangen, weder nach dem im früheren Aufsatze, noch nach dem eben beschriebenen Verfahren. 3 Male habe ich den Versuch

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XVI, S. 68.

in der ersteren Form mit grossen Eiweissmengen gemacht; alles Guanin fand sich in den endlich erhaltenen Filtraten und alle erhaltenen Niederschläge enthielten nur so viel der Substanz, dass man es als Verunreinigung auffassen konnte.

Da ich von der Ansicht ausging, es möchte die guaninhaltige Nucleinsäure durch das lange Stehen unter sauer reagirenden Flüssigkeiten, wie es bei der Verarbeitung so grosser Substanzmengen nöthig wird, gespalten werden, wiederholte ich die Versuche einige Male mit kleinen Substanzmengen und möglichst rasch arbeitend. Aber die Resultate blieben negativ.

Allerdings habe ich zu den Versuchen in diesem Jahre ein neues Präparat von Guanin, von Trommsdorff bezogen — die Silbernitratverbindung gab richtige Silberwerthe —, verwendet. Es ist mir aber nicht erinnerlich, ob ich den einen, oben beschriebenen Versuch mit einem Rest des alten Guanins unbekannter Herkunft, oder schon mit dem Trommsdorff'schen Präparate gemacht habe. Eine Vergleichung der Präparate konnte leider nur mehr mit Hilfe eines noch vom vorigen Jahre her vorhandenen mikroskopischen Präparates der Silbernitratverbindung angestellt werden. Dabei zeigte sich kein auffallender Unterschied der Krystallformen, so dass ich nicht gerne die Verschiedenheit der Präparate für die Verschiedenheit des Erfolges verantwortlich machen möchte. Eine Entscheidung der Frage wird sich wohl nur durch langwieriges Herumprobiren finden lassen. Da ich nicht Aussicht habe, in absehbarer Zeit die Lösung der Frage zu finden, so habe ich meine bisherigen Misserfolge hier mitgetheilt, damit durch meine frühere Angabe nicht etwa Verwirrung geschaffen werde.

Ueber die Ausscheidung des Stickstoffs im Harn.

Von

G. Gumlich.

Mit einer Tafel.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 7. Mai 1892.)

Durch die Untersuchungen von Pflüger, Bohland und Bleibtreu[1]) und weiterhin von E. Schulze[2]) ist nachgewiesen worden, dass die Stickstoffausscheidung im Harn bei Weitem nicht in dem Masse, wie man es früher annahm, auf Harnstoff zurückzuführen ist, sondern dass sich auch die übrigen stickstoffhaltigen Substanzen in nicht unerheblichem Grade betheiligen. Nach obigen Forschern beträgt der als Harnstoff ausgeschiedene Stickstoff bei Gesunden im Mittel nur 86,6 % (84 bis 90,3 %) vom Gesammtstickstoff, etwas mehr, 88 bis 90 %, bei vorwiegender Fleischkost, weniger im Durchschnitt, nämlich 84,5 % (81,9 bis 86,6 %) bei Fiebernden.

Wenn auch in Folge dessen das Interesse für das Verhalten der Componenten des Gesammtstickstoffs des Harns zu einander und zum Gesammtstickstoff unter dem Einfluss verschiedener Versuchsbedingungen wieder bedeutend gestiegen ist, so sind doch, namentlich von klinischer Seite, Untersuchungen pathologischer Harne in dieser Richtung in methodischer Weise noch nicht angestellt worden[3]), eine Erscheinung, welche darauf zurückzuführen sein dürfte, dass diejenigen Methoden, welche zur quantitativen Bestimmung des Harn-

---

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. 38, S. 575; Bd. 43, S. 30; Bd. 44, S. 10.

[2]) Ebend., Bd. 45, S. 401.

[3]) Die nach Fertigstellung dieser Arbeit erschienene Abhandlung von O. Voges (Ueber die Mischung der stickstoffhaltigen Bestandtheile im Harn bei Anämie und Stauungszuständen. Inaug.-Diss., Berlin) konnte leider nicht mehr berücksichtigt werden.

stoffs, der Harnsäure u. s. w. dienen und einige Zuverlässigkeit besitzen, so complicirt und so wenig handlich sind, dass sie unter klinischen Verhältnissen in grösserem Massstabe und für alle einzelnen Stickstoffcomponenten gleichzeitig wohl nur selten zur Ausführung gelangen können.

Unter diesen Umständen leistete ich einer Aufforderung des Herrn Prof. Kossel, die Phosphorwolframsäure auf ihre Brauchbarkeit als quantitatives Trennungsmittel für die stickstoffhaltigen Substanzen des Harns zu prüfen und ev. Harne von Kranken mit diesem Reagens in diesem Sinne zu analysiren, sehr gern Folge. Es sei mir hier gestattet, Herrn Prof. Kossel, meinem hochverehrten Lehrer, für die Anregung zu dieser Arbeit und für seine überaus freundliche und werthvolle Unterstützung bei der Ausführung derselben meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen. Den grösseren Theil der Analysen, insbesondere derjenigen pathologischer Harne, habe ich als Assistent an der inneren Abtheilung des hiesigen Augusta-Hospitales ausgeführt, und bin ich Herrn Prof. Ewald, meinem damaligen Chef, für die bereitwillige Ueberlassung des Krankenmateriales zu grösstem Danke verpflichtet.

Die Phosphorwolframsäure ist bei der Harnanalyse bereits vielfach benutzt worden, namentlich von Pflüger und seinen Mitarbeitern bei den anfangs erwähnten Untersuchungen über den Harnstoffgehalt des Harns. Sie verbesserten die Bunsensche Harnstoffbestimmungsmethode in der Weise, dass sie zunächst aus dem Harn eine Reihe von störenden, stickstoffhaltigen Körpern, welche beim Erhitzen mit alkalischer Chlorbaryumlösung ebenfalls Kohlensäure und Ammoniak liefern und deshalb die Menge des Harnstoffs in fehlerhafter Weise vermehren können, durch Phosphorwolframsäure entfernten und erst nach dieser Operation das Harnfiltrat nach Bunsen behandelten. Ihrer Angabe gemäss wurde durch ihre Phosphorwolframsäure Harnstoff nicht mit ausgefällt; sie konnten also nach den Analysen des Filtrates den Harnstoffgehalt des Harns berechnen. Neben dem Harnstoff fanden sie in dem Filtrat noch wechselnde Mengen von Ammoniak und einen Rest unbekannter, stickstoffhaltiger Substanzen.

Mörner und Sjöqvist[1]) haben in neuerer Zeit ebenfalls eine Harnstoffbestimmungsmethode angegeben und bei der Prüfung derselben die Resultate mittelst dieser verbesserten Bunsen-Pflüger'schen Methode controllirt. Dabei entdeckten sie, dass die von ihnen benutzte Phosphorwolframsäure, insbesondere bei Gegenwart von Pepton und anderen, durch diese Säure fällbaren Substanzen, beträchtliche Mengen von Harnstoff mit ausfällte.

Ich prüfte drei verschiedene, mir zu Gebote stehende Präparate von Phosphorwolframsäure und fand, bei sonst gleich ausgeführten Analysen desselben Harns, erheblich verschiedene Werthe (bis zu 25 % Differenz) für den nicht fällbaren Stickstoff. Von einem dieser Präparate überzeugte ich mich, dass es bei sorgfältiger Beobachtung bestimmter Cautelen, auch bei Gegenwart von solchen stickstoffhaltigen Substanzen, wie sie im normalen Harn enthalten sind, Harnstoff, wenn dessen Gehalt in den Mischungen nur gegen 1 % betrug, nicht ausfällte; bei allen meinen Untersuchungen habe ich nur dieses Präparat benutzt.

Die Prüfung, bezw. Anwendung desselben geschah in folgender Weise. Ich bereitete mir:

A. eine Harnstofflösung, dieselbe hatte einen Stickstoffgehalt von 1,7332 %;

B. eine Ammoniumchloridlösung mit einem Stickstoffgehalt von 0,1512 %;

C. eine Lösung von «Extractivstoffen» des Harns, welche einen Stickstoffgehalt von 0,0644 % ergab. Letztere war folgendermassen hergestellt: Mehrere Liter auf dem Wasserbade bei gelinder Wärme eingeengten Harns wurden so lange mit Alkohol extrahirt, bis in einer Probe des Rückstandes Harnstoff nicht mehr nachgewiesen werden konnte. Diese Masse wurde dann mit Wasser behandelt und abfiltrirt. Die klare, filtrirte Lösung mit dem angegebenen Stickstoffgehalt enthielt noch eine geringe Menge von durch Phosphorwolframsäure nicht fällbarem Stickstoff, nämlich in 100 cbcm. 0,56 mgr.,

---

[1]) Skandin. Archiv f. Physiol., Bd. II, S. 448.

ferner auch einen Rest von Ammoniak, und zwar in 100 cbcm. 6,3 mgr. Der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Stickstoff dieser Lösung C wurde bei Gegenwart von Harnstoff in der Mischung bei den Versuchen natürlich in Rechnung gebracht.

Die Fällung fand mit einer concentrirten Lösung der Phosphorwolframsäure, nach Zusatz von $^1/_{10}$ Vol. Salzsäure (sp. G. 1,12) zu der zu analysirenden Flüssigkeit, statt. Es wurden 50, bezw. 100 cbcm. Flüssigkeit (resp. Harn) mit 5, bezw. 10 cbcm. Salzsäure und darauf genau mit derjenigen Menge Phosphorwolframsäure versetzt, als zur vollständigen Ausfällung, nach Massgabe einer Vorprobe, sich gerade als ausreichend erwiesen hatte. Die Ausführung der letzteren geschah so, dass ich zu 10 cbcm. der zu untersuchenden Flüssigkeit, nach Zusatz von 1 cbcm. Salzsäure, allmälig unter kräftigem Umschütteln aus einer Bürette so lange Phosphorwolframsäure zufliessen liess, bis eine abfiltrirte Probe bei erneutem Zusatz von Phosphorwolframsäure nach 1 bis 2 Minuten keinen deutlichen Niederschlag mehr gab.

Die Harn-Phosphorwolframsäuremischung blieb sodann in einem gut verschlossenen Kölbchen 24 Stunden stehen. Auf die nun folgende Filtration wurde ganz besondere Sorgfalt verwendet. Ich filtrirte bei möglichst niederem Filtrationsdruck durch eine doppelte Lage guten, schwedischen Filtrirpapieres (J. H. Munktell No. 1) und entnahm für die weitere Untersuchung die Proben erst dann, wenn die Flüssigkeit zum grössten Theile, resp. mehrere Male die Filter passirt hatte. Bei Anwendung dieser Cautelen war im Harnfiltrat nach Fällung mit Phosphorwolframsäure kein Ammoniak nach Schlösing mehr nachzuweisen. Man kann sich ohne Weiteres von der Leichtigkeit, mit welcher phosphorwolframsaures Ammoniak, für sich allein in einer Flüssigkeit suspendirt, durch ein Filter geht, überzeugen; bei Anwesenheit von noch anderen, durch diese Säure fällbaren Körpern, wie es im Harn der Fall ist, geschieht dies weniger leicht, kann aber vollständig nur durch die grösste Vorsicht vermieden werden. Vor Allem habe ich bei pathologischen Harnen immer wieder das Harnfiltrat nach Schlösing auf Ammoniak untersucht und stets dasselbe

negative Resultat erhalten. Dass die Schlösing'sche Methode auch unter diesen Verhältnissen richtige Werthe gibt, prüfte ich dabei wiederholt in der Art, dass ich zu Controllproben des Filtrates eine bestimmte Menge einer bekannten Ammoniumchloridlösung hinzufügte; ohne Ausnahme fand ich in der vorgelegten $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure die entsprechende Menge Ammoniak wieder.

Hinsichtlich der Frage nach der Ausfällung des Harnstoffs durch meine Phosphorwolframsäure wurden folgende Versuche angestellt.

Zunächst blieb ein Gemisch der obigen Harnstoff- und Phosphorwolframsäurelösung auch bei längerem Stehen vollkommen klar.

Sodann fällte ich eine Mischung der Harnstoff- und Extractivstofflösung in der oben besprochenen Weise mit Phosphorwolframsäure aus:

5 cbcm. Lösung A + 50 cbcm. Lösung C + 5 cbcm. Salzsäure erforderten zur vollständigen Ausfällung 18 cbcm. Phosphorwolframsäurelösung. Von dem Filtrate enthielten 39 cbcm. 43,40 mgr. Stickstoff; berechnet 43,47 mgr. Stickstoff; es besteht also ein Minus an Stickstoff von nur 0,16 %. Ammoniak liess sich in dem Reste des Filtrates nach Schlösing nicht nachweisen.

Drittens vereinigte ich bestimmte Mengen der Lösungen A, B und C und fällte sie aus:

10 cbcm. Lösung A + 40 cbcm. Lösung B + 20 cbcm. Lösung B + 7 cbcm. Salzsäure erforderten zur Ausfällung 32 cbcm. Phosphorwolframsäure. Von dem Filtrate enthielten 27,25 chcm. 43,54 mgr. Stickstoff; berechnet 43,386 mgr. Stickstoff; also ein Plus von 0,35 %.

Weitere Untersuchungen mit Mischungen von einem noch geringeren Harnstoffgehalt ergaben noch geringere Abweichungen. Dass bei dem Verfahren gewisse Fehlerquellen, welche namentlich auf der Vernachlässigung des Volumens des Niederschlages und der Contraction der Flüssigkeiten bei der Mischung beruhen, vorhanden sind, ist nicht zu leugnen; sie dürften indess nicht von grösserer Bedeutung sein, besonders für vorliegende Untersuchungen, wo es sich um vergleichende

Versuchsreihen handelt, bei welchen die sonstige Ausführung auch in allen Einzelheiten genau übereinstimmte.

Ein Ueberschuss von Phosphorwolframsäure wurde bei der Fällung stets sorgfältig vermieden. Dass ein solcher bei derartigen Untersuchungen von Nachtheil sein kann, glaube ich bei Albumose-Peptonlösungen bemerkt zu haben. Proben derselben Lösung von Witte'schem Pepton, welche nach Ausfällung mit überschüssigem Ammoniumsulfat noch starke Biuretreaction zeigte, wurden durch geringere Mengen von Phosphorwolframsäure vollständig, durch grössere nur unvollständig ausgefällt. Uebrigens habe ich peptonhaltige Harne auch wegen des voluminöseren Niederschlages von meinen Untersuchungen ausgeschlossen.

In Betreff der angewandten Methoden sei bemerkt, dass die Bestimmungen des Gesammtstickstoffs des Harns und des nach Ausfällung mit Phosphorwolframsäure im Harnfiltrat enthaltenen Stickstoffs nach Kjeldahl geschahen; Vorsicht und Sorgfalt war besonders nothwendig beim Kochen des phosphorwolframsäurehaltigen Filtrates (Vermeidung von Verlusten durch Stossen) und bei der Entleerung der Kolben nach demselben (schwer auszuspülender Niederschlag). Die Ammoniakbestimmungen wurden nach Schlösing ausgeführt; die Glocken blieben stets 3 mal 24 Stunden stehen und wurden mehrere Male täglich behutsam im Kreise geschwenkt.

Der Gang der Harnanalysen selbst war folgender. Es wurden (stets durch Doppelanalyse) bestimmt:

1. der Gesammtstickstoff, in 5 cbcm. nach Kjeldahl;

2. der Ammoniakstickstoff, in 20 cbcm. nach Schlösing;

3. der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Stickstoff, in einer den 5 cbcm. Harn entsprechenden Menge des Filtrates nach Fällung mit dieser Säure nach Kjeldahl.

Durch Rechnung erhielt man dann:

4. den Stickstoffgehalt der sog. «Extractivstoffe», als die Differenz zwischen dem Gesammtstickstoff und der Summe des nicht fällbaren und des Ammoniakstickstoffs [1 minus (2 plus 3)].

Die Harnproben wurden stets der genau gesammelten, zusammengeschütteten und gut durch einander gerührten Tagesmenge entnommen. Vor Zersetzung schützte die Harne ein Chloroformzusatz, kühle Aufbewahrung und auch der Umstand, dass sie sofort nach Beendigung des Versuchstages (Vormittags 7 Uhr) in Arbeit genommen wurden. Zwei Harne ausgenommen, welche in einer Pflanzenkostperiode gewonnen wurden und von welchen der eine neutral, der andere schwach alkalisch reagirte, zeigten sie alle eine saure Reaction. Eiweisshaltige Harne wurden durch Aufkochen bei saurer Reaction und nachfolgende Filtration vom Eiweiss befreit, und das Filtrat mit dem Waschwasser des Niederschlages wieder auf das ursprüngliche Volumen gebracht. Auf diese Weise konnte auch hier die Tagesmenge Stickstoff (Eiweiss natürlich abgerechnet) ermittelt werden. Harne, die ein höheres specifisches Gewicht als 1017 besassen, wurden regelmässig auf das doppelte, bezw. dreifache Volumen verdünnt.

Die untersuchten Harne stammten einerseits von mir selbst, indem ich in 2 Versuchsreihen den Einfluss verschiedenartiger Kost auf das Mischungsverhältniss der stickstoffhaltigen Bestandtheile in meinem Harn klarlegte, andererseits von einer grossen Reihe von Patienten. In den beistehenden Tabellen ist in Rubrik 5 bis 8 die den oben genannten Gruppen der stickstoffhaltigen Substanzen zukommende Stickstoffmenge pro die angegeben, in Rubrik 9 bis 12 das Verhältniss des nicht fällbaren, des Ammoniak- und des Extrativstickstoffs zum Gesammtstickstoff (Ges.-N = 100 gesetzt), in Rubrik 13 und 14 das Verhältniss des Stickstoffs, der Extractivstoffe und des Ammoniaks zu dem durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoff. Den letzteren, den nicht fällbaren Stickstoff, werde ich in den nachfolgenden Ausführungen einfach als Harnstoffstickstoff bezeichnen; die gefundene relative Menge desselben stimmt auch, soweit der normale Harn in Frage kommt, im Mittel auffallend mit dem von Pflüger u. s. w. für den Harnstoff angegebenen überein, bei diesen Autoren (bei gemischter Kost) 86,6, bezw. 85,0%, bei mir 85,57% vom Gesammtstickstoff.

Während der fortlaufenden Untersuchungsreihen des eigenen Harns zeigten sich hinsichtlich des zeitlichen Verlaufs der Ausscheidung der einzelnen Stickstoffcomponenten einige interessante Erscheinungen; um diese besser zur Anschauung zu bringen, ist noch eine Curventafel beigefügt. Auf dieser bezeichnen die Abscisse die einzelnen Versuchstage, die Ordinaten die Tagesmengen in gr. Stickstoff, und zwar der Curve a den Gesammtstickstoff, der Curve b den Harnstoffstickstoff, der Curve c den Stickstoff der Extractivstoffe, der Curve d den Ammoniakstickstoff. Die Tafel der ersten Versuchsreihe enthält noch eine fünfte Curve (e), welche in der Weise erhalten ist, dass die betreffende Tagesmenge des Stickstoffs der Extractivstoffe multiplicirt ist mit dem mittleren Verhältniss zwischen diesem und dem Harnstoffstickstoff in den einzelnen Versuchsperioden.

I. Das Mischungsverhältniss der stickstoffhaltigen Substanzen des normalen Harns bei verschiedenartiger Nahrung.

Die Untersuchung des Einflusses der Kost auf die Mischung der verschiedenen Stickstoffcompenenten im normalen Harne sollte, verglichen mit den Resultaten der Arbeiten von Bleibtreu und Schultze, gleichzeitig die Brauchbarkeit des Verfahrens darlegen.

Die erste Versuchsreihe (Tabelle I) dauerte 24 Tage; es folgen nach einander 6 Tage mit gemischter, 7 Tage mit vorwiegend animalischer, 8 Tage mit vegetabilischer und 3 Schlusstage mit gemischter Kost. In der zweiten Periode dieser Versuchsreihe wurden mit dem Fleisch täglich noch etwa 80 Gr. Weissbrot und geringe Mengen Fett genossen; bei der Pflanzenkost blieben Eier ganz, Milch möglichst ausgeschlossen, nur wurden am letzten Pflanzenkosttage auch noch 3 Liter Milch getrunken.

In der zweiten Versuchsreihe bestand vom 1. bis zum 5. Tage die Nahrung, abgesehen von Kaffee und Thee (natürlich beide ohne Zucker), nur aus Fleisch, es wurden Kohlenhydrate als solche gänzlich gemieden, und das Fleisch möglichst fettfrei gewählt. Den 5 Fleischtagen folgen in

dieser Reihe 9 Tage mit vegetabilischer und 3 Schlusstage mit animalischer Kost; analysirt wurden die Urine vom 3. bis zum 8. und vom 12. bis zum 17. Tage dieser Versuchsreihe. Beide Male wurde an Flüssigkeiten täglich zweimal Kaffee und einmal Thee, in der ersten Reihe ausserdem noch 1 Liter Bier (am 6. Tage 2 Liter) getrunken, in der zweiten Reihe die entsprechende Menge Wasser und keine Alkoholica. Die sonstige Lebensweise war eine möglichst gleichmässige.

In beiden Versuchsreihen sind sowohl in den Tabellen als auf der Curventafel die Uebergangstage von der Fleischkost zur Pflanzenkost getrennt von den späteren Tagen der letzteren, weil, wie wir sehen werden, diese beiden Abschnitte derselben Kostperiode ganz verschiedene Mischungsverhältnisse des ausgeschiedenen Stickstoffs aufweisen.

Während sich in der ersten Versuchsreihe eine Aenderung des Wohlbefindens in keiner Weise in keinem Abschnitte bemerkbar machte, stellten sich im Verlaufe der Fleischperiode in der zweiten Reihe allerlei Störungen desselben ein: Allgemeine Schlaffheit und Mattigkeit, Schlaflosigkeit, Schmerzhaftigkeit des Zahnfleisches, Trockenheit der Bindehaut, der Schleimhaut des Mundes und des Rachens, deutlicher Acetongeruch der Exspirationsluft, starker Acetongehalt des Harns (in der Pflanzenkostperiode war derselbe nur minimal). Als sich dazu bei Wiederaufnahme der Fleischkost nach der Pflanzenkost auch noch Magen- und Darmbeschwerden gesellten, brach ich aus diesem Grunde den Versuch ab. Bei diesem 2. Versuch zeigte ferner das Körpergewicht, dessen Feststellung am Ende eines jeden Versuchstages, nach erfolgter Stuhl- und Harnentleerung stattfand, erhebliche Schwankungen (siehe Tabelle II). Auf gewisse Beziehungen derselben zur Ausscheidung der stickstoffhaltigen Extractivstoffe werde ich erst weiter unten bei Besprechung der pathologischen Harne näher eingehen. (Siehe Tabellen I, II und III.)

Ein oberflächlicher Blick auf die Tabellen und die Curventafel lässt uns sogleich das starke Schwanken der absoluten Mengen des Gesammtstickstoffs erkennen; so beträgt

1.	Unter-suchungs-tag. 2.	Tä Har c	beträgt in % der N: des Ammoniaks. 11.	der sog. Extractivstoffe. 12.	Verhältniss des Stickstoffs der Extractivstoffe zum nicht durch P.-W.-S. fällbaren N. 13.	des Ammoniaks zum nicht durch P.-W.-S. fällbaren N. 14.
Gemischte Kost	1	1	5,3	9,8	1 : 8,6	1 : 16,0
	2	1	4,4	8,3	1 : 10,5	1 : 19,8
	3	1	4,9	8,0	1 : 10,8	1 : 17,7
	4	1	4,6	11,9	1 : 7,0	1 : 18,1
	5	1	5.8	10,5	1 : 7,8	1 : 14,4
	6	2	4,7	8,4	1 : 10,3	1 : 18,5
	Mittel:	177	**4,95**	**9,48**	**1 : 9,16**	**1 : 17,41**
Vorwiegend animalische Kost.	7	2	4,2	7,6	1 : 11,6	1 : 21,0
	8	1	4,8	8,2	1 : 10,6	1 : 18,1
	9	1	4,7	10,0	1 : 8,5	1 : 18,1
	10	1	4,7	9,8	1 : 8,7	1 : 18,2
	11	1	5,6	8,5	1 : 10,1	1 : 15,3
	12	1	5,1	7,9	1 : 10,9	1 : 16,9
	13	1	5,3	8,3	1 : 10,4	1 : 16,3
	Mittel:	165	**4,91**	**8,62**	**1 : 10,11**	**1 : 17,70**
Vegetabilische Kost – beim Uebergang	14	1	6,5	10,8	1 : 7,6	1 : 12,7
	15	1	8,0	13,2	1 : 5,9	1 : 9,8
	16	2	6,1	10,5	1 : 7,9	1 : 13,6
	17	1	5,5	11,9	1 : 6,9	1 : 15,0
	Mittel:	16	**6,52**	**11,6**	**1 : 7,07**	**1 : 12,77**
Vegetabilische Kost – nach Ausgleich	18	2	4,1	13,6	1 : 6,0	1 : 20,0
	19	2	4,8	14,1	1 : 5,8	1 : 19,0
	20	2	5,0	13,3	1 : 6,1	1 : 16,3
	21	3	4,5	14,2	1 : 5,6	1 : 18,0
	Mittel:	23	**4,47**	**13,80**	**1 : 5,87**	**1 : 18,32**
Gemischte Kost	22		3,8	13,3	1 : 6,2	1 : 21,7
	23	2	4,4	10,1	1 : 8,4	1 : 19,4
	24	1	4,5	10,3	1 : 8,2	1 : 19,0
	Mittel:	15	**4,23**	**11,24**	**1 : 7,6**	**1 : 20,03**

hsreihe.

enn Gesammt-N = 100, so beträgt in % der N				Verhältniss des Stickstoffs		
durch P.-W.-S.		des Ammoniaks.	der sog. Extractiv-stoffe.	der Extrativstoffe	des Ammoniaks	Körpergewicht.
nicht ıllbar.	fällbar.			zum durch P.-W.-S. nicht fällbaren N.		
9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
87,4	12,6	4,2	8,4	1 : 10,4	1 : 20,8	71,83
87,0	13,0	5,2	7,8	1 : 11,1	1 : 16,7	71,60
86,8	13,2	4,9	8,3	1 : 10,4	1 : 17,7	71,7
87,07	**12,93**	**4,77**	**8,16**	**1 : 10,63**	**1 : 18,4**	
79 9	20,1	5,0	15,1	1 : 5,2	1 : 16,0	71,0
78,5	21,5	8,6	12,9	1 : 6,0	1 : 9,1	71,6
76,9	23,1	8,5	14,6	1 : 5,2	1 : 9,0	71,81
78,43	**21,57**	**7,4**	**14,2**	**1 : 5,47**	**1 : 11,3**	
79,5	20,5	4,5	16,0	1 : 4,9	1 : 17,6	71,7
78,9	21,1	3,4	17,7	1 : 4,4	1 : 23,2	71,2
79,3	20,7	4,4	16,3	1 : 4,8	1 : 18,0	71,35
79,2	**20,8**	**4,1**	**16,7**	**1 : 4,7**	**1 : 19,6**	
79,2	20,8	3,6	17,2	1 : 4,6	1 : 22,0	71,45
82,3	17,7	3,7	14,0	1 : 5,9	1 : 22,2	71,17
81,9	18,1	3,5	14,6	1 : 5,6	1 : 23,4	70,35
81,1	**18,9**	**3,6**	**15,3**	**1 : 5,4**	**1 : 22,5**	

.en Perioden.

ihe.

Wenn Gesammt-N = 100, so beträgt in % der N				Verhältniss des Stickstoffs	
durch P.-W.-S.		des NH_3.	der Extractivstoffe.	der Extractivstoffe	des Ammoniaks
.cht fällbar.	fällbar.			zum durch P.-W.-S. nicht fällbaren N.	
9.	10.	11.	12.	13.	14.
85,57	14,43	4,95	9,48	1 : 9,16	1 : 17,41
86,47	13,53	4,91	8,62	1 : 10,11	1 : 17,7
81,88	18,12	6,52	11,60	1 : 7,07	1 : 12,77
81,73	18,27	4,47	13,80	1 : 5,5	1 : 18,32
84,53	15,47	4,23	11,24	1 : 7,6	1 : 20,03

ɜihe.

9.	10.	11.	12.	13.	14.
87,07	12,93	4,77	8,16	1 : 10,63	1 : 18,4
78,43	21,57	7,4	14,2	1 : 5,47	1 : 11,3
79,20	20,80	4,10	16,70	1 : 4,7	1 : 19,6
81,1	18,9	3,6	15,3	1 : 5,4	1 : 22,5

Analyse No.	Fall No.		n Ex-tiv-ffen.	Wenn Gesammt-N = 100, so beträgt in % der N				Verhältniss des N	
				durch P.-W.-S.		im NH_3.	in den sog. Extractivstoffen.	der Extractivstoffe	des NH_3
				nicht fällbar.	fällbar.			zum durch P.-W.-S. nicht fällbaren N.	
			.	9.	10.	11.	12.	13.	14.
1	I	Croupöse	47	82,1	17,9	2,9	15,0	1 : 5,4	1 : 28,3
2	»	»	95	82,1	17,9	5,3	12,6	1 : 6,5	1 : 15,5
3	»	»	33	77,8	22,2	6,1	16,1	1 : 4,8	1 : 12,7
4	»	»	25	81,4	18,6	5,1	13,5	1 : 6,0	1 : 16,0
5	»	»	04	82,8	17,2	4,9	12,3	1 : 6,7	1 : 16,9
6	II	Croupöse	11	81,6	18,4	3,6	14,8	1 : 5,5	1 : 22,6
7	III	Croupöse	98	85,1	14,9	6,0	8,9	1 : 9,5	1 : 14,2
8	IV	Croupöse	—	79,7	20,3	10,5	9,8	1 : 8,1	1 : 7,5
9	V	Ileotyphus	—	82,1	17,9	7,1	10,8	1 : 7,6	1 : 11,5
10	»	»	57	85,3	14,7	4,7	10,0	1 : 8,5	1 : 18,1
11	VI	Ileotyphus	—	73,2	26,8	12,1	14,7	1 : 5,0	1 : 6,0
12	VII	Ileotyphus	74	77,9	22,1	10,1	12,0	1 : 6,5	1 : 7,7
13	VIII	Ileotyphus	—	75,6	22,4	9,6	14,8	1 : 5,1	1 : 7,8
14	IX	Ileotyphus	—	75,5	24,5	4,5	20,0	1 : 3,7	1 : 16,6
15	X	Endocardit	—	75,5	24,5	9,6	14,9	1 : 5,0	1 : 7,8
16	XI	Erysipelas	205	83,3	16,7	5,1	11,6	1 : 7,1	1 : 16,2
17	XII	Perityphlit	47	81,1	18,9	5,7	13,2	1 : 6,1	1 : 14,2
18	»	»	71	86,5	13,5	4,3	9,2	1 : 9,4	1 : 20,1
19	XIII	Perityphlit	00	80,7	19,3	4,0	15,3	1 : 5,8	1 : 22,0
20	XIV	Perityphlit	49	86,4	13,6	3,6	10,0	1 : 8,6	1 : 24,0
21	XV	Gallenstein	01	80,7	19,3	8,3	11,0	1 : 7,3	1 : 9,7
22	XVI	Phthisis p	04	81,8	18,2	7,9	10,3	1 : 7,9	1 : 10,3
23	XVII	Sarcomato	930	81,5	18,5	3,8	14,7	1 : 5,8	1 : 22,0
24	XVIII	Kind X.;	—	87,8	12,2	5,6	6,6	1 : 13,2	1 : 15,6
25	XIX	Diabetes	607	87,5	12,5	8,3	4,2	1 : 20,8	1 : 10,5
26	»	»	740	86,9	13,1	7,8	5,3	1 : 16,4	1 : 11,1
27	»	»	143	86,9	13,1	8,9	4,2	1 : 20,6	1 : 9,7
28	»	»	576	84,8	15,2	10,4	4,8	1 : 17,6	1 : 8,1
29	XX	Diabetes	673	74,7	25,3	14,0	11,3	1 : 6,6	1 : 5,3
30	»	»	694	76,3	23,7	15,9	7,8	1 : 9,7	1 : 4,8
31	XXI	Diabetes	342	82,5	17,5	7,3	10,2	1 : 8,0	1 : 11,3
32	»	»	707	80,5	19,5	7,6	11,9	1 : 6,7	1 : 10,6
33	XXII	Diabetes	702	83,1	16,9	5,7	11,2	1 : 7,3	1 : 14,5
34	XXIII	Cirrhosis	010	70,0	30,0	12,3	17,7	1 : 3,9	1 : 5,6
35	»	»	829	77,6	22,4	9,2	13,2	1 : 5,8	1 : 8,6
36	XXIV	Anaemie,	868	76,6	23,4	11,3	12,1	1 : 6,3	1 : 6,7
37	»	»	764	69,6	30,4	10,4	19,6	1 : 3,4	1 : 6,7
38	XXV	Carcinoma	093	82,9	17,1	6,1	11,0	1 : 7,5	1 : 13,6
39	»	»	516	82,2	17,8	4,6	13,2	1 : 6,2	1 : 17,9
40	XXVI	Carcinoma	006	82,9	17,1	6,2	10,9	1 : 7,6	1 : 13,2

Tagesmengen in gr. N				Wenn Gesammt-N = 100, so beträgt in % der N				Verhältniss des N	
Gesammt-N.	durch P.-W.-S. nicht fällbarer N.	im NH_3.	in sog. Extractivstoffen.	durch P.-W.-S. nicht fällbar.	durch P.-W.-S. fällbar.	im NH_3.	in den sog. Extractivstoffen.	der Extractivstoffe zum durch P.-W.-S. nicht fällbaren N.	des NH_3 zum durch P.-W.-S. nicht fällbaren N.
5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.
4,998	3,665	0,601	0,732	73,4	26,6	12,0	14,6	1 : 5,0	1 : 6,1
8,197	6,261	0,863	1,073	76,4	23,6	10,5	13,1	1 : 5,8	1 : 7,2
8,916	7,071	0,717	1,128	79,4	20,6	8,0	12,6	1 : 6,3	1 : 9,9
7,490	6,580	0,507	0,403	87,9	12,1	6,7	5,4	1 : 16,2	1 : 13,1
3,608	2,757	0,165	0,686	76,5	23,5	4,5	19,0	1 : 4,0	1 : 17,0
6,750	5,625	0,321	0,804	83,4	16,6	4,7	11,9	1 : 7,0	1 : 17,7
5,732	4.776	0,294	0.672	84,3	15,7	4,7	11,0	1 : 7,6	1 : 17,9
5,267	4,195	0.176	0,896	79,7	20,3	3,3	17,0	1 : 4,6	1 : 24,1
4,581	3,833	0,181	0,567	83,7	16,3	3,9	12,4	1 : 6,7	1 : 21,4
3,780	3,221	0,130	0,429	85,3	14,7	3,4	11,3	1 : 7,5	1 : 25,1
12,684	10,374	0,892	1,418	81,8	18,2	7,0	11,2	1 : 7,3	1 : 11,7
13,479	11,733	0,457	1,289	87,1	12,9	3,3	9,6	1 : 9,0	1 : 26,4
7,612	9,723	0,290	0,599	88,4	11,6	3,8	7,8	1 : 11,3	1 : 23,2
5,533	4,841	0,383	0,309	87,7	12,3	6,7	5,6	1 : 15,6	1 : 13,0
2,782	2,298	0,101	0,383	82,3	17,7	3,6	14,1	1 : 5,8	1 : 22,9
3,058	2,563	0,102	0,393	83,9	16,1	3,3	12,8	1 : 6,5	1 : 25,3
21,735	18,900	0,682	2.153	87,0	13,0	3.1	9,9	1 : 8,8	1 : 28,0
28,013	24,568	0,936	2,509	87,7	12,3	3,3	9,0	1 : 9,7	1 : 26,5
11,995	10,239	0,300	1,456	85,3	14,7	2,5	12,2	1 : 7,0	1 : 34,0
6,384	5,466	0,202	0,716	85,7	14,3	3,1	11,2	1 : 5,9	1 : 27,0
—	—	—	—	82,2	17,8	3,8	14,0	1 : 5,8	1 : 21,6
4,229	3,635	0,237	0,357	86,0	14,0	5,6	8,4	1 : 10,2	1 : 15,3
3,906	3,294	0,163	0,449	84,4	15,6	4,1	11,5	1 : 7,3	1 : 20,5
9,566	8,496	0,349	0,721	88,9	11,1	3,6	7,5	1 : 11,9	1 : 24,7
8,625	7,197	0,300	1,128	83,5	16,5	3,4	13,1	1 : 6,3	1 : 24,5
10,886	7,887	0,638	2,361	72,5	27,5	5,8	21,7	1 : 3,3	1 : 12,5
13,677	10,354	0,790	2,533	75,7	24,3	5,7	18,6	1 : 4,0	1 : 13,2
8,425	6,083	0,336	2,006	72,3	27,7	4,0	23,7	1 : 3,0	1 : 18,0
—	—	—	—	72,5	27,5	6,8	20,7	1 : 3,5	1 : 10,6
8,243	6,053	0,639	1,551	73,5	26,5	7,7	18,8	1 : 3,9	1 : 9,5
8,008	6,496	0,392	1,120	81,2	18,8	4,8	14,0	1 : 5,8	1 : 16,9
15,053	11,446	0,784	2,823	76,1	23,9	5,2	18,7	1 : 4,0	1 : 14,5
4,739	3,669	0,632	0,438	77,5	22,5	13,3	9,2	1 : 8,4	1 : 5,8
3,360	2,541	0,284	0,535	75,7	24,3	8,4	15,9	1 : 5,4	1 : 9,0
11,501	9,201	1,237	1,063	80,0	20,0	10,7	9,3	1 : 8,6	1 : 7,4
—	—	—	—	84,5	15,5	0	15,5	1 : 6,1	—
—	—	—	—	83,4	16,6	0	16,6	1 : 5,0	—

das Mittel der 3 Fleischtage der 2. Versuchsreihe 22,85 gr. N pro die, das der letzten Pflanzenkosttage dieser Reihe nur 8,99 gr. N. Der Gesammtstickstoffausscheidung geht im Allgemeinen parallel die des Harnstoffs und des Ammoniaks. Eine Ausnahme macht die letztere beim Uebergang von der Fleischkost zur Pflanzenkost, wo sich auffallend hohe Werthe für den Ammoniakstickstoff, pro die bis zu 0,907 gr. (Versuchsreihe I, 15. Tag) und 0,961 gr. (Versuchsreihe II, 7. Tag), finden. Ferner aber geht mit der Ausscheidung des Gesammtstickstoffs nicht die des Stickstoffs der Extractivstoffe parallel; diese ist am niedrigsten bei gemischter Kost, 1,32 gr. im Mittel, sie beträgt bei Pflanzenkost durchschnittlich 1,44, bezw. 1,50 gr., bei Fleischkost 1,73 gr., bezw. 1,87 gr. pro die. In der Schluss-(Fleischkost-)Periode der 2. Versuchsreihe erreicht sie am 17. Tage in Folge des krankhaften Körperzustandes sogar die enorme Höhe von 3,469 gr. N.

Was die relativen Mengen betrifft, so beträgt das mittlere Verhältniss der Stickstoffcomponenten zum Gesammtstickstoff (dieser = 100 gesetzt):

	Harnstoff-N	:	Ammoniak-N	:	Extractivstoff-N.
bei gemischter Kost =	85,57	:	4,95	:	9,48
„ animal. „ =	87,07	:	4,77	:	8,16
	(bezw. 86,47)		(bezw. 4,91)		(bezw. 8,62)
„ vegetabil. „ =	79,20	:	4,10	:	16,70
	(bezw. 81,73)		(bezw. 4,47)		(bezw. 13,80)

Es zeigt sich also:

1. eine deutliche, relative Vermehrung des Harnstoffs bei Fleischkost, eine starke Verminderung desselben bei der Pflanzenkost;
2. eine beträchtliche relative Verminderung des Ammoniaks bei Pflanzenkost, keine wesentliche Veränderung desselben bei der Fleischkost;
3. eine deutliche relative Verminderung der Extractivstoffe bei Fleischkost und starke relative Vermehrung derselben bei der Pflanzenkost[1]).

[1]) Vergleichsweise analysirte ich frischen Harn von Pflanzenfressern (Pferd und Rind); das Resultat findet sich am Ende der Tabelle IV. Bemerkenswerth ist das vollständige Fehlen des Ammoniaks.

Die Ammoniakstickstoff-Ausscheidung ist auffallender Weise relativ am höchsten und niedrigsten in derselben Kostperiode, nämlich in der vegetabilischen: sie beträgt am 15. Tage der 1. Reihe 8,0 %, am 7. Tage der 2. Reihe 8,6 % und am 13. Tage derselben Reihe dagegen nur 3,4 % vom Gesammtstickstoff. Ferner zeigt sich bezüglich des Ammoniaks, dass, entsprechend dem Ansteigen desselben beim Uebergang von der Fleischkost zur Pflanzenkost, bei Wiederaufnahme jener nach der letzteren eine Nachwirkung im umgekehrten Sinne statt hat, so dass durchschnittlich die geringsten Ammoniakstickstoffmengen, absolut wie relativ, gerade in dieser Zeit zur Ausscheidung gelangen, und zwar 0,55 (bezw. 0,57) gr. absolut, relativ 4,23 (bezw. 3,6) % vom Gesammtstickstoff.

Wie zum Gesammtstickstoff, so variirt im Allgemeinen auch in den einzelnen Perioden das Verhältniss des Stickstoffs der Extractivstoffe und des Ammoniaks zu dem des Harnstoffs; ersteres, das Verhältniss des Stickstoffs der Extractivstoffe zu dem des Harnstoffs, sinkt von 1 : 9,16 bei gemischter Kost auf 1 : 10,63 (bezw. 10,11) bei animalischer und steigt auf 1 : 4,70 (bezw. 1 : 5,5) bei vegetabilischer; letzteres sinkt bei Fleischkost auf 1 : 18,4 (bezw. 17,70) von dem bei gemischter Kost wie 1 : 17,41, und bei länger dauernder Pflanzennahrung sogar auf 19,6.

In Betreff des zeitlichen Verlaufs der Ausscheidung der einzelnen Stickstoffcomponenten ist folgende Erscheinung besonders hervorzuheben: Das Maximum der Extractivstoffe trat mit grosser Regelmässigkeit einen Tag später auf als diejenigen des Gesammtstickstoffs, des Harnstoffs und des Ammoniaks, welche ihrerseits im Grossen und Ganzen zusammenfielen (vergl. die Tafel). So sehen wir das Maximum des Stickstoffs der Extractivstoffe auf den 4., 9. und 13. Tag der ersten Versuchsreihe und den 6. Tag der zweiten fallen, ihnen gehen am 3., 8. und 12. Tage der ersten und am 5. Tage der zweiten Versuchsreihe diejenigen des Gesammtstickstoffs, des Harnstoffs und, wenigstens meist, auch des Ammoniaks voran. Besonders deutlich veranschaulicht dies die Curve e: sie müsste, gingen Harnstoff- und Extractivstoffausscheidung

parallel, auf die Curve b fallen (vergl. obige Darstellung derselben); statt dessen ist sie an den genannten Tagen [4, 9 und 13 (I) und 6 (II)] noch im Ansteigen begriffen, während die Harnstoffcurve schon abfällt. Die vermehrte Ausscheidung von Extractivstoffen am 22. Versuchstage der ersten Reihe dürfte andererseits im Wesentlichen auf der Aenderung der Nahrung beruhen, sie zeigt sich in ähnlicher Weise auch am 15. Tage der 2. Versuchsreihe.

Diese Erscheinung des späteren Auftretens der Extractivstoffe im Harn als der übrigen stickstoffhaltigen Substanzen erinnert an die Beobachtungen Rudenko's[1]), welcher bei seinen Untersuchungen «über das Verhalten des neutralen Schwefels bei Stoffwechselstörungen und über die Oxydirbarkeit desselben im thierischen Organismus» fand, dass der neutrale Schwefel erheblich später im Harn erschien als der saure. Es liegt nun in der That sehr nahe, als Ursache für diese Erscheinung im Allgemeinen die Grösse des Moleküls der zur Ausscheidung kommenden Stoffe verantwortlich zu machen, in der Art, dass das grössere Molekül langsam, vielleicht schwerer, die Nieren passirt als das kleinere Molekül des Harnstoffs und der anorganischen Salze: eine Vorstellungsweise, für welche auch in gewisser Hinsicht einige unten folgende Beobachtungen bei Nierenkranken und bei hochgradiger Herzschwäche sprechen.

II. Untersuchungen der Harne von Kranken.

Es wurden 75 Harne, von 44 Patienten stammend, analysirt. Ich wählte in der Regel gut ausgeprägte, nicht besonders complicirte, doch meist schwere Krankheitsfälle, bei welchen Abweichungen vom normalen Mischungsverhältnisse der stickstoffhaltigen Bestandtheile im Harn vermuthet werden konnten. Für sichere Schlussfolgerungen sind selbstverständlich diese Beobachtungen bei Weitem nicht ausreichend; die Untersuchungen fortzusetzen bin ich indessen aus äusseren Gründen zur Zeit nicht im Stande. Unter Berücksichtigung

---

[1]) Virch. Archiv, Bd. CXXV, S. 102.

der an mir selbst gemachten Beobachtungen hinsichtlich der Ausscheidung der stickstoffhaltigen Stoffe, möchte ich immerhin, im Anschluss an die Analysen und die kurzen Angaben bezüglich der betreffenden Krankheitsfälle, die Aufmerksamkeit auf einige Punkte, welche vielleicht von allgemeinerer Bedeutung sind, hinlenken. (Siehe Tabelle IV.)

A. Fieberhafte Krankheiten.

a) Croupöse Pneumonie.

Fall 1. (Analyse 1—5.) M. M., 28jähriger, kräftig gebauter, gut genährter Arbeiter. Noch während des initialen Schüttelfrostes in die Anstalt aufgenommen; die erste Harnanalyse betraf das Gemisch des in den ersten 36 Stunden der Krankheit gesammelten Harnes (1908 cbcm.). Continuirliches Fieber zwischen 39,5 und 40,2°; leichte febrile Albuminurie; keine Complicationen, keine Medication, Heilung. Sehr geringe Nahrungsaufnahme an den 4 Fiebertagen. Starke Abmagerung und allgemeine Schwäche machen sich besonders nach erfolgter Krisis bemerkbar.

Fall 2. (Analyse 6.) Frl. K., 39jährige Plätterin. Pneumonia migrans. Aufgenommen am 9. Krankheitstage, Temp. zwischen 39 und 40°, febrile Albuminurie; am 12. und 13. Tage Schüttelfröste; von letzterem kam die Harnmenge zur Untersuchung; gleichzeitig wurde wegen Herzschwäche Campher und Benzoë innerlich gegeben. Sehr geringe Nahrungsaufnahme. Exitus letalis am 34. Krankheitstage (Obduction zeigt ausser Myocarditis parenchymatosa keine Complication).

Fall 3. (Analyse 7.) Frl. Sch., 24 Jahre alt, kräftig und gut genährt. Temp. zwischen 39,5 und 41°; leichte febrile Albuminurie. Heilung. In den Versuchstag fiel ein Collaps, grosse Camphergaben. Im Uebrigen nahm Patientin relativ reichlich Nahrungsstoffe zu sich und fand offenbar auch zur Zeit der Harnuntersuchung eine stärkere Körpergewichtsabnahme nicht statt.

Fall 4. (Analyse 8.) Frau Sz., 49jährige Kaufmannsfrau; in hoffnungslosem Zustande rec.: hochgradige Athemnoth,

starke Cyanose, Somnolenz. Campher, Benzoë etc. 48 Stunden vor Eintritt des Todes eine Harnprobe untersucht (Obduction zeigt keine wesentliche Complication).

b) Ileotyphus.

Fall 5. (Analyse 9 und 10.) Frl. E., 32 Jahre alt. Leichter Krankheitsfall. Heilung. Innerlich Salzsäure gegeben. Genügende Nahrungsaufnahme. Stuhl täglich auf Klysma.

Fall 6. (Analyse 11.) Frl. Th., 21 jährige, gut genährte Patientin. Temp. zwischen 39° und 40° zur Zeit der Untersuchung. Intensive Delirien; febrile Albuminurie, Diazoreaction stark; Stuhlentleerung regelmässig, keine Diarrhö. Sehr geringe Nahrungsaufnahme. 24 Stunden vor dem Versuchstage 1,0 Antipyrin gegeben; sonst Salzsäure. Heilung.

Fall 7. (Analyse 12) Frau Fl., 32 Jahre alt; schwächlich und ziemlich abgemagert. 24 Stunden vor dem Versuchstage ein Schüttelfrost. Temp. zwischen 39,5 und 40,2°. Nimmt wenig Nahrung zu sich. Innerlich Salzsäure. Heilung.

Fall 8. (Analyse 13.) A. B., kräftiger, gut genährter, 18 jähriger Arbeiter. Mittelschwerer Krankheitsfall. Tod am 27. Krankheitstage in Folge multipler Milzabscesse. Harnuntersuchung fand 5 Tage vorher bei hohem Fieber bis 41°, und fast vollständiger Inanition statt.

Fall 9. (Analyse 14.) A. U., 17 jähriger, kräftiger Arbeiter. Fieber bis 40,5°. Starkes Benommensein, sehr geringe Nahrungsaufnahme. Heilung. Keine Medication vor der Harnuntersuchung.

NB. Es darf nicht unerwähnt bleiben, dass alle Fieberkranken, vor Allem aber die Typhuskranken nicht unbeträchtliche Mengen Wein, aber keine Antipyretica und Bäder erhielten.

c) Verschiedene fieberhafte Erkrankungen.

Fall 10. (Analyse 15.) Frau M., 39 jährige Beamtenfrau: Acute maligne Endocarditis. Schüttelfröste, Delirien, Durchfälle, Albuminurie, Inanition. Tod (und Obduction; multiple Infarcte).

Fall 11. (Analyse 16.) Frl. K., 18jährige, an hartnäckiger Chlorose leidende Patientin; bekommt ein Gesichtserysipel. Temp. an 3 Tagen gegen 40°. Allgemeinbefinden verhältnissmässig wenig beeinflusst, auch genügende Nahrungsaufnahme. Heilung. Die Harnuntersuchung fand am 2. Fiebertage statt.

Fall 12. (Analyse 17 und 18.) M. W., 26jähriger, kräftiger Arbeiter. Perityphlitischer Abscess. Die erste Harnuntersuchung fand statt bei hohem Fieber, Inanition, vor der Operation; die zweite 4 Tage nach der Operation, als Patient fieberfrei war und reichlich Nahrung zu sich nahm. Opium innerlich. Heilung.

Fall 13. (Analyse 19.) M. Br., 45jähriger Arbeiter. Perityphlitis. Hohes Fieber. Inanition. Ohne Operation geheilt. Innerlich Opium.

Fall 14. (Analyse 20.) K. Kl., 34jähriger Arbeiter. Abgekapselter paratyphlitischer Abscess (noch nicht eröffnet; zur Zeit der Harnuntersuchung bestanden keine Allgemeinerscheinungen und keine Fieber mehr. Heilung.

Fall 15. (Analyse 21.) Frl. W., 26jährige Musiklehrerin. Perihepatitischer Abscess in Folge eines perforirten Gallensteines. Mässiges Fieber. Inanition. Heilung.

Fall 16. (Analyse 22.) H. L., 44jähriger, stark abgemagerter Porzellandreher. Vorgeschrittene Lungentuberculose und chronisches, schweres Asthma. Geringes Fieber. Mässige Nahrungsaufnahme. Morphium.

Fall 17. (Analyse 23.) Allgemeine Sarcomatose. H. Br., 50jähriger Kaufmann. Geringes Fieber. Starke Schweisse, sehr geringe Nahrungsaufnahme, starke Abmagerung.

Fall 18. (Analyse 24.) 2½jähriges Mädchen. Noma. Hochgradige Anämie; pastöses Aussehen. Geringes Fieber. Tod.

B. Chronische (fieberlose) Krankheiten.

d) Diabetes mellitus.

Fall 19. (Analyse 25 bis 28.) H. H., 32jähriger, sehr kräftiger, gut genährter und gesund aussehender Arbeiter. Keine nachweisbare Organerkrankung. Zuckergehalt des Harnes

4 bis 5 %, pro die ca. 200 gr.; Eisenchloridreaction; kein Eiweiss. Vorwiegende Fleischkost. Vor den ersten 3 Untersuchungen innerlich Natrium sozojodolicum; vor der letzten Karlsbader Salz.

Fall 20. (Analyse 29 und 30.) M. K., 58jähriger Bäckermeister; starke Abmagerung, mässiges Fieber. Fussgangrän. Oberschenkelamputation. Am Tage vor der Operation Zuckergehalt des Harnes 1,75 % (pro die = 45,15 gr.), einen Tag nach der Operation 3 % Zucker (pro die = 72,6 gr.). Starke Eisenchloridreaction. Geringer Eiweissgehalt. Inanition. Patient erliegt 14 Tage später im diabetischen Coma.

Fall 21. (Analyse 31 und 32.) Fr. T., 34jähriger, kräftiger Landwirth. Ischias. Bei Fleischdiät und Karlsbader Salz enthält der Harn 0,75 % Zucker (pro die 10,32 gr.), bei wiederaufgenommenem Genuss von Kohlehydraten 1,2 % (pro die 15,24 gr.). Starke Eisenchloridreaction. Kein Eiweiss.

Fall 22. (Analyse 33.) G. G., 52jähriger Gastwirth. Mässige Abmagerung. Bei Fleischdiät und Karlsbader Salz 0,7 % Zucker (pro die 13,3 gr.). Fussgangrän. Amputation.

e) Lebercirrhose.

Fall 23. (Analyse 34 und 35.) Frau K., 39jährige Arbeitersfrau. Abmagerung. Vorgeschrittene Erkrankung; starker Ascites, Oedeme der unteren Extremitäten. Erheblicher Milztumor. Leichte Diarrhöe. Im Harn geringe Mengen Eisweiss. Die erste Untersuchung fand kurz vor einer Ascitespunction, die zweite 5 Tage nach derselben statt.

f) Anaemia gravis mit Milztumor.

Fall 24. (Analyse 36 und 37.) P. R., 24jähriger Maschinenbauer. Seit 3 Jahren krank. Zwischen 1 bis 2 Mill. rothe Blutkörperchen im cbmm., Milztumor reicht nach rechts bis zum Nabel, nach unten bis handbreit oberhalb der Symphyse. Wiederholte Darmblutungen. Starker Ascites, der häufig punctirt werden muss. Spärliche Diurese. Harn ohne Eiweiss u. dergl.

g) Carcinoma hepatis.

Fall 25. (Analyse 38 und 39.) M. Te., 46jähriger Arbeiter; abgemagert, kachectisch aussehend.

h) Carcinoma ventriculi.

Fall 26. (Analyse 40.) H. Sch., 42jähriger Eisenbahnbeamter. Wiederholte Magenblutungen. Hochgradige Anämie. Innerlich Condurango mit Salzsäure.

i) Herzinsufficienz.

Fall 27. (Analyse 41.) P. E., 28jähriges Dienstmädchen. Mitralinsufficienz. Harnuntersuchung im Anschluss an einen in ziemlich acuter Weise aufgetretenen Anfall von Herzinsufficienz: (vorübergehende) hochgradige Stauungserscheinungen (Orthopnö, Cyanose, Leberschwellung, Oedeme). Harn spärlich, sedimentirend, enthält ca. 1‰ Eiweiss, keine Cylinder, reichlich Hydrobilirubin. Innerlich Campher und Digitalis. Geringe Nahrungsaufnahme.

Fall 28. (Analyse 42.) A. M., 21jährige Schneiderin. Mitralstenose, Cyanose, Leberschwellung, Oedeme, Ascites, Stauungsharn mit ca. 2‰ Eiweiss. Campher und Digitalis. Tod 9 Tage nach der Harnuntersuchung. Diurese zur Zeit der Untersuchung etwas gebessert.

Fall 29. (Analyse 43.) R. R., 42jähriger Fabrikarbeiter. Adipositas cordis. Allgemeine Anämie. Oedeme der unteren Extremitäten; Harn ohne Eiweiss u. dergl.

k) Acute Nephritis.

(Die Nierenkranken erhielten in der Regel eine Milch-Weissbrotkost.)

Fall 30. (Analyse 44 bis 47.) Fr. Ha., 24jähriger Schneider. Acute Nierentzündung mit allgemeinem Hydrops seit 10 Wochen; in den ersten 7 Wochen spärliche Harnsecretion (zwischen 700 und 1200 cbcm. pro Tag), in den letzten drei Wochen stetig steigende Diurese, so dass sie an den dem ersten Untersuchungstage voraufgehenden 3 Tagen je 2800 cbcm. betrug. Gleichzeitig schnelle Abschwellung des Hydrops. Am Ende des Versuchstages, an welchem 2500 cbcm. Harn gesammelt wurden, trat mit Uebelkeit, Erbrechen, heftigen

Kopfschmerzen und Schwindel ein urämischer Anfall ein: Bewusstlossigkeit, Convulsionen, vollständige Erblindung (diese bestand 3 Tage hindurch), Anurie (von etwa 60stündiger Dauer). Leichtere Anfälle folgten an den beiden folgenden Tagen. Am Morgen des dritten Tages mittelst Katheters 490 cbcm. Harn entleert; derselbe enthielt ca. 3 ‰ Eiweiss, während er an den Tagen vorher kaum Spuren enthalten hatte. An den folgenden Tagen nahm der Eiweissgehalt wieder stetig ab. Mit Wiedereintritt der Diurese verschwanden alle urämischen Erscheinungen.

Fall 31. (Analyse 48 bis 50.) P. Em., 29jährige Krankenpflegerin. Seit 4 Wochen acute hämorrhagische Nierenentzündung. Anfangs ca. 3 ‰ Eiweiss, zur Zeit der Untersuchung ca. 1 ‰, reichliche Cylinder, Blutkörperchen in mässiger Menge. Allgemeiner Hydrops.

Fall 32. (Analyse 51 und 52.) V. M., 15jähriger Maschinenbauerlehrling. Frische Nierenentzündung; bisher nicht behandelt. 7 ‰ Eiweiss, Blut- und Epithelialcylinder. Während des ganzen Verlaufs keine Oedeme. Bei der 2. Untersuchung schon wesentliche Besserung; nur noch etwa 1/2 ‰ Eiweiss im Harn.

Fall 33. (Analyse 53.) H. F., 14jähriger Schriftsetzer; Reconvalescent; hat einen urämischen Anfall überstanden. Im Harn kaum noch Eiweissspuren. Bekommt noch Nierenkost.

l) Schrumpfniere (Fall 34 bis 41).

Fall 34. (Analyse 54.) K. L., 40jähriger Brauer. Starker Raucher und Potator. Seit 5 Jahren nierenleidend, zeitweise asthmatische Anfälle. Keine Oedeme. Urinmenge schwankend zwischen 600 und 2600 pro Tag; Eiweissausscheidung täglich etwa 1,0 gr. Harnuntersuchung fällt in die Zeit eines schweren urämisch-asthmatischen Anfalles; geringe Harnmenge.

Fall 35. (Analyse 55 und 56.) Frau H., 39jährige Bäckermeistersfrau. Hochgradige Anämie, Leucocytose. Dysenterische Stühle. Geringe Oedeme; geringer Eiweissgehalt des Harnes. Section nach 5 Tagen: hochgradigste Schrumpfnieren und im Dickdarm dysenterische Geschwüre.

Fall 36. (Analyse 57 und 58.) P. P., 52jähriger Kaufmann; guter Ernährungszustand, gemischte Kost. Durchschnittlich im Harn pro Tag 2 gr. Eiweiss. Wegen Herzschwäche, die das Krankheitsbild beherrscht, Digitalis. Kein Hydrops. Exitus letalis nach 3 Monaten; Obduct.: Schrumpfniere, Herzhypertrophie und Herzverfettung, Acteriosclerose, Stauungsleber, Stauungsmilz und Stauungsnieren. (Bei der 2. Untersuchung bestand Fieber, 39,5, und Kniegelenksentzündung.)

Fall 37. (Analyse 59 und 60.) Frau B., 38jährige Kaufmannsfrau. Nierenentzündung seit 2 Jahren. Harn enthält 2 bis 4‰ Eiweiss. Starke Anämie; mässige Abmagerung; keine Oedeme.

Fall 38. (Analyse 61.) M. Kl., 46jähriger Arbeiter, starke Abmagerung. Im Harn 1 bis 2‰ Eiweiss. Keine Oedeme.

Fall 39. (Analyse 62 und 63.) M. Fr., 50jähriger Arbeiter, bisher gemischte Kost. Abgemagert. Diarrhöe. Keine Oedeme. Harn enthält nur Spuren von Eiweiss.

Fall 40. (Analyse 64 und 65.) Frau L., 35jährige Beamtenfrau; rechte Niere, cystisch entartet, wird kurze Zeit nach der Untersuchung exstirpirt. 0,5 bis 1‰ Eiweiss im Harn. Anämie. In den ersten Versuchstag fiel ein Anfall von Herzschwäche.

Fall 41. (Analyse 66 bis 70.) V. A., 56jähriger Beamter. Krankheit besteht seit 2 Jahren, asthmatische Beschwerden. Zur Zeit der Untersuchung (letztes Krankheitsstadium, Tod nach einigen Wochen) hochgradige Stauungserscheinungen, Herzinsufficienz; allgemeiner Hydrops, Ascites, Hydrothorax. 1 bis 2‰ Eiweiss im Harn. Sehr grosse Dosen von Campher und Digitalis. Gemischte Kost.

Fall 42. (Analyse 71 und 72.) Recidivirende (parenchymatöse) Nephritis bei einem 33jährigen Kaufmanne. Starker allgemeiner Hydrops. Leichte urämische Erscheinungen. Digitalis. Letaler Verlauf.

Fall 43. (Analyse 73 und 74.) Frau R., 44jährige Arbeitersfrau. Parenchymatöse (chronische) Nierenentzündung. 1,5 bis 2% Eiweiss im Harn. Bei der ersten Untersuchung

urämische Erscheinungen; bei der 2. auffallend schnell zunehmender Hydrops.

Fall 44. (Analyse 75.) H. Sch., 29jähriger Knopfarbeiter. Lungenphthisis und chronische parenchymatöse Nierenentzündung. Harn ca. 1,5 % Eiweiss. Mässige Oedeme. Anämie. Gemischte Kost. Auffallend geringe Allgemeinerscheinungen.

Die Resultate der Analysen der pathologischen Harne (vgl. Tab. IV) scheinen beim ersten Blick, namentlich hinsichtlich des Mischungsverhältnisses der stickstoffhaltigen Bestandtheile, jeder Gesetzmässigkeit zu entbehren; im Wesentlichen gleiche Krankheiten und derselbe Krankheitsfall zu verschiedenen Zeiten geben für dieselbe Stickstoffcomponente bald eine hohe, bald eine niedrige Procentzahl. Bei genauerer Betrachtung der einzelnen Krankkeitsgruppen, bezw. Krankheitsfälle ergeben sich jedoch gewisse Regeln für die Stickstoffausscheidung im Harn.

Fassen wir zunächst die Fieberkrankheiten in's Auge. Der relative Gehalt an Harnstoff-Stickstoff schwankt bei diesen zwischen 73,2 (Fall 6) und 87,8 % (Fall 18); das Mittel (nur von Fiebertagen) beträgt 82,05 %. Schliessen wir die mit Salzsäure behandelten Typhusfälle, welche natürlich in Folge des Ansteigens des Ammoniak-Stickstoffs (Fall 5 bis 8) entsprechend niedrige Zahlen für den Harnstoffstickstoff aufweisen, aus und ferner, aus später zu erörternden Gründen, Fall 3, 11 und 18, so besteht ein Schwanken des Harnstoffstickstoffs nur noch zwischen 75,5 (Fall 9 und 10) und 82,1 % (Fall 1), und das Mittel von diesen Fällen ist 80,20 %. Diese Mittelzahl, welche also eine relative Verminderung der Harnstoffmenge zu den übrigen stickstoffhaltigen Bestandtheilen in fieberhaften Krankheiten bedeutet, betrifft den Harn von Patienten mit meist hohem Fieber und, wie es unter diesen Verhältnissen fast regelmässig der Fall ist, mit gleichzeitiger, sehr mangelhafter Nahrungsaufnahme, so dass dieselben sichtlich in wenigen Tagen erheblich abmagerten.

Die relative Harnstoffverminderung ist bei diesen Kranken vorwiegend ausgeglichen durch vermehrte Ausscheidung der Stickstoffs der Ex-

tractivstoffe. Die Grenzwerthe für diesen (Fall 3, 11 und 18 ausgenommen) sind 9,8 (Fall 4) und 20,0% (Fall 9); im Mittel wurden 13,6% vom Gesammtstickstoff als Stickstoff der Extractivstoffe ausgeschieden, d. h. es findet eine erhebliche Vermehrung desselben in schweren Fieberfällen statt.

Die Werthe für den Ammoniakstickstoff bewegen sich bei sämmtlichen Fieberkranken zwischen 2,9 (Fall 1) und 12,1% (Fall 6) vom Gesammtstickstoff. Constant hohe Zahlen finden wir, wie schon erwähnt, bei den mit Salzsäure behandelten Typhuskranken, von 7,1 bis zu 12,1%, auffallend niedrige, trotz bestehenden hohen Fiebers, in Fall 1 (2,9%) und Fall 2 (3,6%). Diese letztgenannten niedrigen Werthe stammen beide von Versuchstagen, welche mit intensiven Schüttelfrösten (bei Pneumonie) verliefen. Sondern wir, für Berechnung des Mittels der relativen Ammoniakausscheidung, die Typhusfälle, diese Schüttelfrosttage bei Pneumonie und auch Fall 3, 11 und 18, aus, so ergibt sich für dasselbe die Grösse von 6,62%; also auch das Ammoniak ist im Fieber durchschnittlich relativ vermehrt.

Im Einzelnen dürfte Fall 4 von gewissem Interesse sein, als hier der Ammoniakstickstoff den der Extractivstoffe übersteigt; sie verhalten sich wie 10,5 : 9,8. Es ist dies die letal verlaufende Pneumonie, welche durch grosse Herzschwäche complicirt war. Da wohl nicht anzunehmen ist, dass unter diesen Verhältnissen relativ weniger Extractivstoffe gebildet werden (eher würde das Gegentheil unserer Vorstellungsweise entsprechen), so dürfte, weil auch bei der erfolgten Section keine schwerere Erkrankung der Nieren nachzuweisen war, für dieses veränderte Mischungsverhältniss der stickstoffhaltigen Substanzen erstens die Herzschwäche selbst, zweitens die oben besprochene langsamere (bezw. schwerere) Ausscheidung der Extractivstoffe durch die Nieren als Ursache anzusehen sein.

In Betreff der Fälle 3, 11 und 18 sei bemerkt, dass die reine Fieberwirkung bei ihnen aus folgenden Gründen, wie es scheint, nicht zu Tage treten konnte. Bei Fall 3, welcher sich im Uebrigen auch insofern von den anderen

unterschied, dass die Nahrungsaufnahme bei ihm eine verhältnissmässig gute war, was auch der reichlichen Gesammtstickstoffausscheidung im Harn entspricht, — bei diesem Fall 3 fiel in den Versuchstag ein ziemlich bedeutender Collaps, und ähnlich wie in Fall 4 dürfte die relativ geringe Menge von Extractivstoffen im Harn auf die vorübergehend ungenügende Herzthätigkeit zurückzuführen sein. Fall 11 und 18 zeigten wesentliche Complicationen, jener eine hochgradige Chlorose, dieser eine schwere Anämie; zunächst dürfen wir wohl annehmen, dass unter solchen Verhältnissen auch die Mischung der stickstoffhaltigen Harnbestandtheile eine Aenderung erfährt, nach diesen beiden Fällen also zu Gunsten des Harnstoffs.

Die vier untersuchten Diabetiker zeichnen sich alle durch einen mehr oder minder relativ hohen Gehalt an Ammoniakstickstoff aus; absolut und relativ sehr hoch ist er in Fall 19 und 20, er überragt in beiden weit den der Extractivstoffe. Es beträgt jener im Mittel 3,08 gr. pro die, dieser 1,64 gr., d. h. sie verhalten sich (Ges.-N. = 100) wie 10,9 : 6,27. Die höchsten Werthe für den Ammoniakstickstoff (14 und 15,9% vom Gesammtstickstoff) sind von demjenigen Patienten erreicht, welcher bald darauf im Coma zu Grunde ging. Bei Fall 19 ist ausserdem, besonders im Hinblick auf die Gesammtstickstoffausscheidung, z. B. von 38 gr. pro Tag (Analyse 25), die Menge der Extractivstoffe im Harn eine relativ äusserst geringe, indem sie nur 4,2% von jenem beträgt; auch in absolutem Sinne kann man nicht von einer Steigerung derselben sprechen. Also auch bei den Diabetikern haben wir dasselbe Verhalten wie beim Gesunden; es vermindert die Fleischnahrung relativ die Ausscheidung von Extractivstoffen. In entsprechender Weise sehen wir auf der anderen Seite eine Vermehrung derselben auch bei diesen Kranken eintreten, erstens nach Genuss von Kohlehydraten (Fall 21, Analyse 32) und bei bestehendem Fieber (Fall 20, Analyse 29).

Die relative Harnstoffmenge schwankt bei den Diabetikern nicht unbeträchtlich, nämlich zwischen 74,7 und 87,3%; sie ist am niedrigsten in Fall 20, wo gleichzeitig auch Fieber, Inanition und starke Abmagerung sich geltend machte, am

höchsten im Fall 19, welcher sich umgekehrt eines verhältnissmässig guten Allgemeinbefindens erfreute und überhaupt nicht den Eindruck eines Kranken machte.

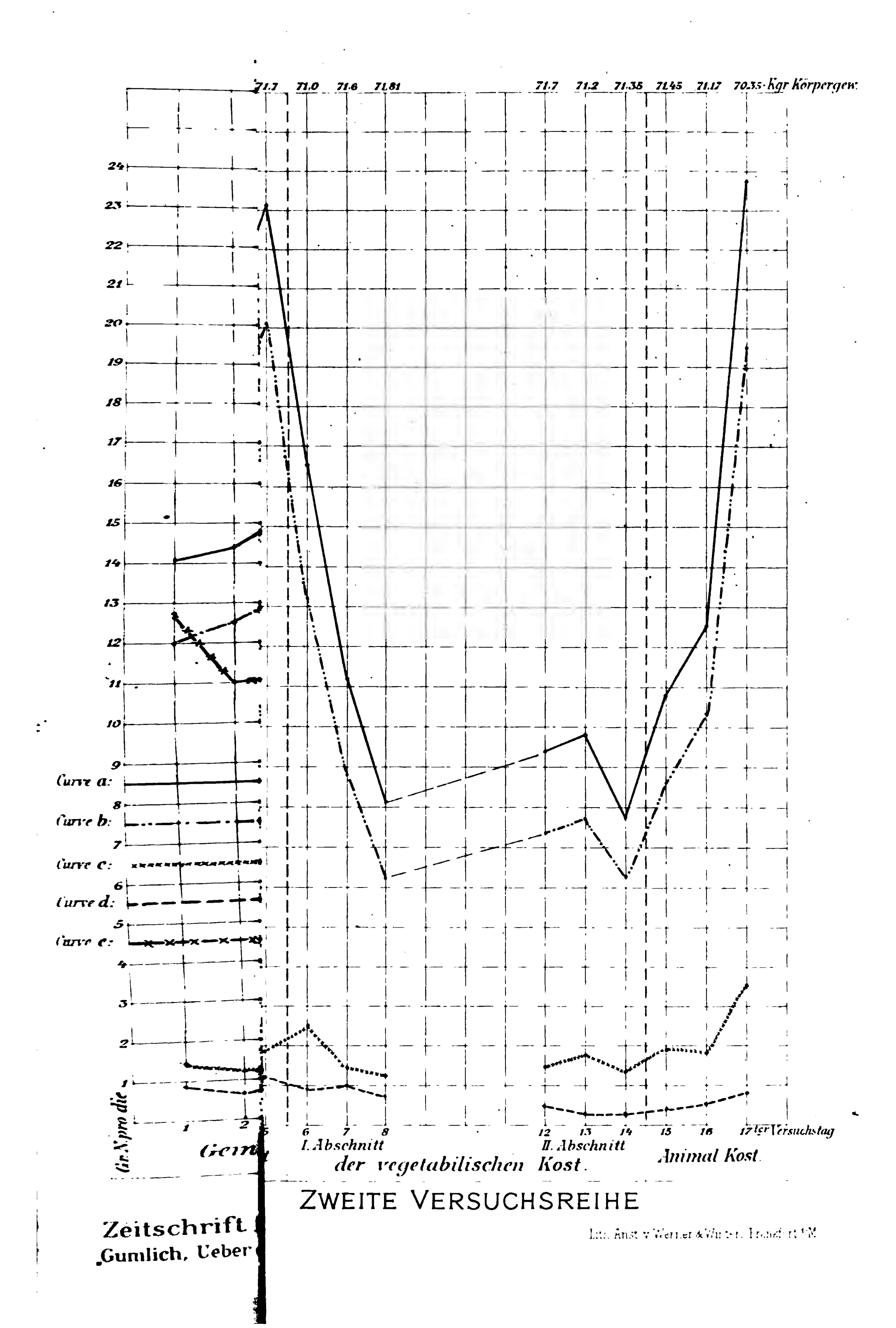
Die vorgeschrittene Lebercirrhose, die schwere Anämie (mit dem grossen Milztumor) und die Herzfehler (letztere im Stadium der Insufficienz) zeigen alle dasselbe Verhalten hinsichtlich der stickstoffhaltigen Harnbestandtheile: Relative Verminderung des Harnstoffs, Vermehrung des Ammoniaks und der Extractivstoffe. Für den erhöhten Ammoniakgehalt dürfte in diesen Fällen die beeinträchtigte Leberfunction, für den der Extractivstoffe, wenigstens zum grössten Theil, die geringe Nahrungsaufnahme verantwortlich zu machen sein.

Die Nierenkrankheiten lassen durchschnittlich eine geringe Gesammtstickstoffmenge und einen absolut und relativ geringen Ammoniakgehalt erkennen, eine Erscheinung, welche wohl mit der Milch-Weissbrotkost dieser Patienten in Zusammenhang zu bringen ist; wenigstens weisen alle diejenigen Fälle, welche mit gemischter Kost behandelt wurden, eine vermehrte Ammoniak- und Gesammtstickstoffausscheidung auf, z. B. Fall 32, Fall 36, Fall 41.

Eine relativ reichlichere Ammoniak-Ausscheidung findet bei Nierenkranken, in den untersuchten Fällen, F. 30, 34 und 43, wenigstens regelmässig, kurz vor oder während acut auftretenden, schwereren urämischen Erscheinungen statt; namentlich springt dies Verhalten bei Berücksichtigung der gleichzeitig ausgeschiedenen Extractivstickstoffmengen in die Augen. Von ganz hervorragender Bedeutung ist der Fall 30. Hier hatte sich die Gelegenheit geboten, den Harn unmittelbar vor und nach dem urämischen Anfall (während desselben sistirte die Harnabsonderung) zu untersuchen.

Hinsichtlich des Mischungsverhältnisses betrug

		Harnstoff-N	:	Ammoniak-N	:	N der Extractivstoffe
vor dem Anfall	=	87,9	:	6,7	:	5,4
nach dem Anfall	=	76,5	:	4,5	:	19,0



ZWEITE VERSUCHSREIHE



Der urämische Anfall trat gleichzeitig mit einer schnellen Resorption des allgemeinen Hydrops und bei sehr reichlicher Diurese auf; an den drei, dem Untersuchungstage voraufgehenden Tagen wurden (ohne Medication um diese Zeit) je 2800 cbcm. Harn entleert. Während der Harnstoff und die Salze sogleich ausgeschieden werden, werden die Extractivstoffe zunächst zurückgehalten und zugleich mit der Beendigung des Anfalls in relativ beträchtlich vermehrter Menge ausgeschieden. Dieses Zusammentreffen liefert den Beweis, dass der urämische Anfall durch die Ansammlung der Extractivstoffe in den Geweben oder den Säften bedingt wird oder wenigstens mit der vermehrten Menge der Extractivstoffe in Zusammenhang steht.

Es drängt sich die Aehnlichkeit des urämischen Anfalls mit dem Gichtanfall auf; nach Beendigung des letzteren ist bekanntlich eine vermehrte Harnsäureausscheidung vorhanden, die in gleicher Weise eintritt, wie hier die vermehrte Ausscheidung der Extractivstoffe. Meine Untersuchungen zeigen, auf welchem Wege die Frage nach der Natur der Urämie weiterhin bearbeitet werden muss: Es ist nothwendig, die durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stoffe in dem unmittelbar nach dem urämischen Anfall entleerten Harn einer genaueren chemischen Analyse zu unterziehen, um diejenigen Bestandtheile ausfindig zu machen, deren Zurückhaltung im Körper den Anfall hervorrufen.

Die Harnstoffausscheidung ist bei Nierenkranken in der Regel eine relativ grosse, wenn nicht, wie in den Fällen 41, 42 und 43, starke Stauungs- und Inanitionszustände das Krankheitsbild compliciren. Dasselbe trifft auch für die Extractivstoffe bei Nierenkrankheiten (im Wesentlichen kommen acute Nephritis und Schrumpfniere in Betracht) im Allgemeinen zu.

Ueberblicken wir zum Schluss noch einmal die Ausscheidung des Stickstoffs der Extractivstoffe bei allen angestellten Untersuchungen, so scheint offenbar die Grösse derselben in directer Beziehung zu stehen zu der Grösse

des mehr oder weniger schnell erfolgenden Zerfalles von Körpereiweiss. Die Ausscheidung von Extractivstoffen ist vermehrt, wenn das Körpergewicht schnell abnimmt. Dies zeigt sich sowohl bei Gesunden als bei Kranken. Bei dem Selbstversuch fanden sich die grössten Mengen von Extractivstoffen im Harn an Tagen starken Körpergewichtsverlustes, nämlich

2,481 gr. N am 6. Tag der 2. Versuchsreihe, entsprechend einer Abnahme an K.-G. um 0,7 kg., und

3,469 gr. N am 15. Tag der 2. Versuchsreihe, entsprechend einer Abnahme an K.-G. um 0,82 kg.

Analog sind die Beobachtungen in dieser Hinsicht bei fieberhaften Erkrankungen, bei den untersuchten Herz- und Leberkrankheiten und offenbar auch bei einigen Nierenerkrankungen (vergl. Fall 30, 31 und 41). Umgekehrt finden wir, dass das Fleischeiweiss der Nahrung bei Gesunden und bei den Diabetikern die Extractivstoffe absolut nur wenig, relativ nicht vermehrt.

Wir ziehen aus diesen Thatsachen den Schluss, dass der Zerfall stickstoffhaltiger Gewebsbestandtheile relativ mehr «Extractivstoffe» liefert, als der Zerfall von stickstoffhaltigen Nahrungsstoffen. Letztere fallen den zersetzenden Kräften vollständiger anheim als die ersteren, insofern ein grösserer Procentsatz derselben in Harnstoff (und Ammoniak) umgewandelt wird, als es bei den ersteren der Fall ist.

Zur Frage über das quantitative Verhalten der Schwefelsäure und der Aetherschwefelsäuren im Harn bei Diarrhöen.

Ein Beitrag zur Kenntniss der Darmfäulniss.

Von

Dr. S. T. Bartoschewitsch.

(Der Redaction zugegangen am 20. Mai 1892.)

Die Frage über die Darmfäulniss bei Störungen im Verdauungskanal ist mehrmals Gegenstand wissenschaftlicher Forschungen gewesen. Eine in der letzten Zeit erschienene Arbeit von Rovighi (Zeitschr. f. Phys., Bd. XVI) zeigt, dass Terpentinöl, Campher, Menthol und Eukalyptolöl die Quantität der Fäulnissproducte vermindert, dass eine ähnliche Wirkung durch die Milch- und Kephyrdiät erzielt wird. Gleichzeitig mit dieser Arbeit von Rovighi ist meine Untersuchung erschienen, welche zum Ziel hatte, das quantitative Verhalten der Ausscheidung der Schwefelsäure und der Aetherschwefelsäuren bei pathologischen catarrhalischen Diarrhöen und bei den künstlich durch Darreichung von Abführmitteln bewirkten zu studiren.

Eine nahe Beziehung zu den Fäulnissvorgängen im Darmkanal bei krankhaften Zuständen desselben hat die Arbeit von Brieger[1]), welcher in einigen Fällen von acutem Magen-Darmcatarrh bei strenger Diät die Quantität der freien Schwefelsäure = 1,45, die der gebundenen = 0,32 gefunden hat. —

[1]) Einige Beziehungen der Fäulnissproducte zu Krankheiten. Zeitschrift f. d. klin. Med., 1881, Bd. III, S. 465.

Steiff[1]) aus der Klinik von Prof. Gerhardt unternahm die Untersuchung der antiseptischen Wirkung einiger Arzneistoffe. Ausser den klinischen Daten diente ihm als Kriterium der Fäulnissprocesse im Darmkanal — die Quantität der Aetherschwefelsäuren im Harne. Er hat im Ganzen 7 Fälle untersucht; 4 mit Calomel und 3 mit Campher. Das Calomel zu 0,3, dreimal täglich gegeben, äussert bei verstärkter Fäulniss im Darm keine antiseptische Wirkung; der Campher (zu 0,3 dreimal täglich) vermindert die Fäulnissprocesse nur unbedeutend; dabei äussert sich dessen Wirkung erst nach Verlauf von 1—3 Tagen nach den ersten Gaben; die Anwendung des Calomel zur Verminderung der Gährungsprocesse im Darm hält Verfasser für unzweckmässig.

In derselben Richtung hat auch Morax[2]) Untersuchungen angestellt; Versuche an Hunden mit Jodoform und basischem salpetersauren Bismuth haben erwiesen, dass das erstgenannte Mittel antiseptisch wirke; die Versuche mit dem Calomel (1,0—2,0 pro die) haben gezeigt, dass dieses die Darmfäulniss vermindert; bei der Calomeldarreichung (2,0) wurde die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren in prägnanter Weise vermindert. Von zweien untersuchten Menschen hatte das Calomel (0,75) bei dem Einen die Quantität der gebundenen Schwefelsäure herabgesetzt, bei dem Zweiten unverändert gelassen; bei Darreichung von Ricinusöl erhielt Verfasser eine Steigerung der Quantität der Aetherschwefelsäuren und das Verhältniss war von 16 zu 7 gesunken. Hierzu muss ich bemerken, dass der Harn in 2—3stündlichen Portionen untersucht wurde, dass das Tagesquantum des Harns nicht angegeben und dass über die Art der Nahrung der Versuchspersonen keine Angaben vorhanden sind.

A. Poehl[3]) hat 1886 einige Versuche an einem 25 Jahre alten Menschen, welcher einige Tage hindurch sich mit süsser

[1]) Ueber die Beeinflussung der Darmfäulniss durch die Arzneimittel. Zeitschr. f. klin. Med., 1889, Bd. VI, S. 311.

[2]) Bestimmung der Darmfäulniss durch die Aetherschwefelsäure im Harn. Zeitschr. f. phys. Chemie, 1886, Bd. X, S. 318.

[3]) Bestimmung der Darmfäulniss durch Untersuchung des Harns. Petersb. Medizin. Wochenschr., 1887, No. 50.

und saurer Milch ernährt hatte, ausgeführt und $\frac{S}{s} = 28—35,8$ gefunden; bei einem absoluten Vegetarianer ist die Aetherschwefelsäure in minimer Quantität gefunden worden. In einem Falle starker choleraartiger Diarrhöe, welche mit Schwefelkohlenstoff-Wasser behandelt wurde (180,0 während 4 Stunden), war in der ersten nach Sistiren der Diarrhöe erhaltenen Harnportion $\frac{S}{s} = \frac{1}{36,2}$, während die Quantität des Indican eine bedeutende war; bei mehrfachen Untersuchungen erwies sich $\frac{S}{s}$ ziemlich hoch, nämlich über 15, trotz der vermehrten Indicanmenge; nur ein einziges Mal war es gelungen, die oben angeführte Ziffer von 36 zu beobachten. Die Bedeutung dieser sonst interessanten Beobachtungen wird dadurch herabgesetzt, dass keine Controllversuche ausgeführt wurden und dass der Kranke Schwefelkohlenstoff-Wasser erhalten hatte — eine Substanz, welche für Fäulniss- und Gährungsprocesse bei Weitem nicht gleichgiltig ist.

Die grosse Bedeutung, welche ohne Zweifel der Galle bei der Desinfection des Darmkanals zukommt, hat mehrere Forscher veranlasst, auch die Rolle dieses Secretes bei der Ausscheidung der gebundenen Schwefelsäure durch den Harn zu studiren. E. Bernatzky[1]) hat sich in der Klinik von Prof. L. Popoff in Warschau mit dieser Frage an vier Icterus-Kranken beschäftigt.

Bei der Behandlung erhielten die Icterus-Kranken Karlsbader Salz und Auswaschungen des Rectum mit kaltem Wasser, Milchdiät und von Zeit zu Zeit Fleisch; im Stadium der farblosen Fäces und hochgradiger Färbung des Harns wurden mehr Aetherschwefelsäuren gefunden, als im zweiten Stadium, wenn die Galle freien Zutritt in den Darmkanal hatte (im I. Stadium erhielten die Kranken Karlsbader Salz); in einem Falle erhielt Patient Rhabarber — das Verhältniss im icterischen

[1]) Ob izmienenjach kolicestwa siernoj kisloty preformirowanmej i soczetannoj w mocie, pri seltuche (russisch). Klinic. sbornik Prof. L. Popowo. II, 1890.

Stadium 1 : 4,6, im icterusfreien = 1 : 11,6; im dritten Falle wurde abwechselnd Karlsbader Salz und Calomel, Letzteres sogar mit Ol. Ricini, endlich Rhabarber mit Jalappa gegeben, ausserdem wurde am 7. Tage statt der Milch-, Fleischdiät verordnet — dies Alles hat nur sehr unbedeutende Schwankungen bewirkt (1 : 5,0—1 : 8,7) und erst nachdem die Ausscheidung der Galle durch den Harn aufgehört hatte, wird das Verhältniss von 1 : 11,4 (im Mittel) erhalten. In allen 4 Fällen ist bei Fehlen der Galle im Darme und zwar «nur in Folge dieses Fehlens» die Quantität der Aetherschwefelsäuren im Harne immer grösser, als bei freiem Zutritt der Galle in den Darm — die Galle äussert also ohne Zweifel eine antiseptische Wirkung auf die Darmingesta; indessen ist beim Icterus neben der Steigerung der allgemeinen Quantität der Aetherschwefelsäuren der Gehalt an Indoxyl und Scatoxyl und Oxysäuren minim (Brieger). Im 1. und 2. Falle wurde Diarrhöe beobachtet (spontan oder in Folge der Abführmittel?) — beide Male war die Quantität der Aetherschwefelsäuren gestiegen; ich weise auf diese Thatsache hin, obwohl ich ihr keine besondere Bedeutung beimessen kann (da die Diarrhöe jedesmal nur einen Tag lang dauerte).

Der Verfasser hat in seinen Versuchen eine antiseptische Wirkung des Calomel nicht gesehen: der eine seiner Kranken erhielt 3mal täglich zu 2 Gran -- das Verhältniss $\frac{S}{s}$ = 5,6—5,5, statt 8,3; sodann während 3 Tagen zu 10 Gran täglich (gerade seit diesem Tage Fleischdiät) und das Verhältniss bleibt unverändert; ein anderer Patient erhielt einmal 10 Gran Calomel und Ol. Ricini; Verfasser ist geneigt anzunehmen, dass das Calomel im alkalisch reagirenden Darminhalte, selbst beim Fehlen von Galle, leicht oxydirende Substanzen finde, welche die Zersetzung des Quecksilberoxyduls bedingen (Zawadsky), wobei Albuminate gebildet würden, welche antiseptisch entweder gar nicht oder nur schwach wirken. Seine Schlussfolgerungen resumirt Verfasser folgender Weise: Beim Icterus ist die Quantität der Aetherschwefelsäuren und ihr Verhältniss zur präformirten gesteigert; die gesammte Quantität

der Schwefelsäure ist beim Icterus vermindert; das Calomel äussert beim Icterus keine antiseptische Wirkung.

Wir sehen also, dass die Zahl fest begründeter Daten über die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren durchaus nicht gross ist: zweifellos ist nur, dass deren Quantität bei Erkrankungen, welche Stauung des Darminhaltes bewirken, steigt, ebenso bei dem Vorhandensein irgend welcher Fäulnissherde, der Einfluss von Fieberprocessen stellt dagegen eine streitige, und gar die Wirkung von Abführ- und desinficirenden Mitteln eine ganz offene Frage vor, sowohl wegen der geringen Zahl der sich damit beschäftigenden Arbeiten, als auch wegen der unbedeutenden Anzahl der ausgeführten Beobachtungen und Versuche. Daher hat die Frage «über die Quantität der Aetherschwefelsäuren bei Diarrhöen», welche den Gegenstand vorliegender Arbeit bildet, eine wesentliche Bedeutung: erstlich in theoretischer Beziehung, denn wenn sich die Quantität der Aetherschwefelsäuren bei Diarrhöen vermindert erweist, wird dies eine wichtige Bestätigung der Theorie über die ausschliessliche Entstehung genannter Säuren im Darm liefern; zweitens in praktischer Beziehung, denn einige Wirkungsseiten der Abführmittel — sowohl derjenigen, welche den Darm desinficiren, als auch derjenigen, welche eine solche Wirkung nicht äussern, können vorläufig (bis zu einer weiteren Vervollkommnung der bacteriologischen Untersuchung der Fäcalmassen) nur auf diesem Wege studirt werden. Ich habe nun versucht, eine möglichst genaue Beantwortung folgender Punkte zu erzielen:

1. Erleidet die absolute und relative Quantität der freien Schwefelsäure und der Aetherschwefelsäuren bei Diarrhöen eine Veränderung;

2. Wie wirken in dieser Hinsicht die Abführmittel;

3. Besteht zwischen den Abführmitteln, welche den Darm desinficiren, und denen, welchen eine solche Wirkung nicht zukommt, ein Unterschied;

4. Hat die Bestimmung des Verhältnisses $\frac{b}{a}$ oder $\frac{a+b}{b}$ eine diagnostische Bedeutung.

Bevor wir zur Beantwortung dieser Fragen übergehen, wollen wir zuerst die angewandten Untersuchungsmethoden und die Versuchsanordnung besprechen.

Die Schwefelsäure im Harne wurde nach der Methode von Salkowski[1]) bestimmt, mit dem Unterschiede aber, dass ich bei Bestimmung der Gesammtmenge der Schwefelsäure aus dem gut vermischten Tagesquantum 100 cbcm. durch schwedisches Papier filtrirten Harn entnahm, in einem chemischen Glase Salzsäure von spec. Gew. 1,124 in einer Quantität von 8 cbcm. hinzufügte (nicht zehn, wie Salkowski empfiehlt, weil ich den Ueberfluss von Salzsäure befürchtete, welche beim Kochen nach Fresenius eine gewisse Quantität $BaSO_4$ lösen kann, Controllversuche aber mir gezeigt hatten, dass diese Quantität für die Zersetzung der gepaarten Säuren ausreiche), diese Mischung erhitzte ich im selben, mit einer Glassplatte bedeckten Glase auf einem Drahtnetz bis zum Kochen und liess sie während 10 Minuten kochen; sodann fügte ich ungefähr 20 cbcm. (im Ueberfluss) einer in der Kälte gesättigten Lösung von Chlorbaryum hinzu und erhitzte dann das Gemisch in einem kochenden Wasserbade bis zur vollständigen Fällung (während 45—50 Minuten). Die Niederschläge wurden während 24 Stunden im Laboratorium stehen gelassen und am folgenden Tage durch Schleicher'sche Filter (9 cm. — Gewicht der Asche 0,00012) filtrirt, wobei ich den Niederschlag von den Wandungen des Glasses mit einem Glasstäbchen sammelte, an dessen unteres Ende ein Stückchen Gummischlauch gezogen war. Der auf dem Filter gesammelte braun oder roth gefärbte Niederschlag wurde mit heissem Wasser durchgewaschen, bis im Spülwasser bei Zufügung von Schwefelsäure kein Niederschlag mehr erfolgte; danach wurde der Niederschlag mit heissem 70° Alkohol ausgewaschen (gewöhnlich genügte eine einmalige Füllung des Trichters, nur bei grossem Gehalt von Pigmenten eine zweimalige) und endlich das Filter 2 mal nach einander bis zu den Rändern mit Aether gefüllt, welcher den Niederschlag sehr rasch durch-

[1]) Ueber die quantitative Bestimmung der Schwefelsäure im Harn. Arch. f. patholog. Anatomie, 1880, Bd. LXXIX, S. 551—554.

drang, wenn in ihm am Boden des Trichters mehr Alkohol zurückblieb. Sodann wurde das in einer Trockenkammer getrocknete Filter in einen abgewogenen Platinatiegel gebracht, bei halbgeöffnetem Tiegeldeckel bis zur vollständigen Verkohlung des Zellgewebes erhitzt, dann der Deckel geschlossen und während 15—20 Minuten geglüht, bis im Tiegel ein weisser Rückstand erhalten wurde. Der Tiegel wurde in einen Exsiceator mit Chlorcalcium gestellt, nach der Abkühlung gewogen, nochmals geglüht und wieder gewogen und endlich aus dem erhaltenen Gewicht das Gewicht des Tiegels substrahirt, um das reine Gewicht des schwefelsauren Baryums zu erhalten; das erhaltene Salz wurde auf die Anwesenheit schwefeliger Verbindungen geprüft, welche in Folge Reduction des schwefelsauren Baryums in Gegenwart von Kohlenstoff der Filter gebildet werden konnten; wenn die Probe ein prositives Resultat ergab — im Ganzen 11 Analysen —, so wurde die Untersuchung wiederholt. So erhielt ich das Gewicht des schwefelsauren Baryums, welches die gesammte Schwefelsäure des untersuchten Harnes enthielt.

Um die gebundene Schwefelsäure zu bestimmen, nahm ich 100 cbcm. filtrirten Harn und vermischte ihn mit dem gleichen Volum der Barytlösung in einem trockenen Glase (2 Volume in der Kälte gesättigter Aetzbarytlösung und 1 Volum der gleichen Lösung von Clorbaryum), es wurde ein voluminöser Niederschlag erhalten, welcher ziemlich rasch sich absetzte und unter Anderem die gesammte präformirte Schwefelsäure enthielt. Durch ein trockenes Filter wurden in ein trockenes Glas 100 cbcm. abfiltrirt, mit 8 cbcm. Salzsäure (spec. Gew. 1,124) angesäuert, bis zum Kochen auf einem Drahtnetze erhitzt und dann während 10 Minuten bis zur Ausscheidung des schwefelsauren Baryts gekocht; selbstverständlich braucht man hier kein Chlorbaryum mehr hinzuzufügen, welches in der Mischung schon im Ueberfluss vorhanden ist — die übrigen Vorgänge sind dieselben wie bei der ersten Bestimmung. Im Resultat erhielt ich so das Gewicht des $BaSO_4$, welches die gebundene Schwefelsäure des Harnes enthielt. Das Gewicht bestimmte ich durch eine Ziffer

mit 3 Decimalstellen, wobei ich das Gewicht der Filter unberücksichtigt liess, da es eine so geringe Grösse vorstellte, dass sie die Genauigkeit der Resultate nicht beeinträchtigen konnte; die Berechnung wurde auf's Anhydrid der Schwefelsäure gemacht, d. h. das erhaltene $BaSO_4$-Gewicht wurde mit $\frac{80}{233} = 0,343$ multiplicirt. Die so erhaltene Ziffer des Procentgehaltes von SO_3 wurde mit einem Bruche multiplicirt, dessen Zähler das Tagesharnquantum, dessen Nenner 100 war — auf diese Weise erhielt ich das Tagesquantum des gesammten Schwefelsäureanhydrides und des mit aromatischen Substanzen verbundenen; indem ich die erste Ziffer durch die zweite dividirte $\left(\frac{a+b}{b}\right)$, erhielt ich das Verhältniss des gebundenen Schwefelsäureanhydrids zur Gesammtmenge desselben.

Was nun die Versuchsanordnung anbetrifft, so musste diese dem Ziele meiner Arbeit entsprechend so gestaltet sein, dass bei gesunden Menschen durch irgend welche Abführmittel Diarrhöen hervorgerufen wurden und andererseits Kranke mit Diarrhöen ohne andere complicirende Leiden gewählt werden mussten. Das Eine sowohl wie das Andere war ziemlich schwierig: das Erste, weil gesunde Menschen nicht leicht zu bewegen waren, sich der Wirkung von Abführmitteln zu unterziehen, namentlich während einer längeren Zeit; das Zweite, weil im Sommer dieses Jahres rein diarrhöische Kranke in den Petersburger ärztlichen Anstalten fast gar nicht vorhanden waren und ich daher auf ein ganz zufälliges Material beschränkt war.

Unter den Abführmitteln musste der Schwefel ausgeschlossen werden, welcher zum Theil als Schwefelsäure, zum Theil als organische Schwefelverbindung ausgeschieden wird [Presch[1])], sowie alle schwefelsauren Salze, diese Salze enthaltenden Mineralwässer, da sie alle den Gehalt an Schwefel-

[1]) Ueber das Verhalten des Schwefels im Organismus und den Nachweis der unterschwefel. Säure im Menschenharn. Arch. f. pathol. Anat., 1890, S. 148—167

säure im Harn beeinflussen könnten. (Schon Sick[1]) hatte zu 0,8 SO_3 in Form der Glaubersalzlösung in einer, zwei und drei Dosen eingenommen und sind nach der letzten flüssige Entleerungen eingetreten. Dabei erwies es sich, dass in der ersten Versuchsreihe die Quantität der Schwefelsäure im Harne um fast 0,8, bei den weiteren Versuchen aber nur unbedeutend gestiegen war.) Drastica mussten ebenfalls vermieden werden, da sie den Darm der Versuchspersonen schädlich beeinflussen könnten (obwohl Radziewsky[2]) die Theilung in abführende und drastische Mittel nicht anerkennt und auf Grund seiner Versuche meint, dass alle Abfuhrmittel blos eine mehr weniger bedeutende Peristaltik hervorrufen), und auch ihrer Zusammensetzung nach grössten Theils zu solcher Art Versuchen nicht geeignet sind. Daher blieb ich bei zwei allgemein gebräuchlichen Mitteln stehen: dem Calomel und dem Ricinusöl, um so mehr, da diese beiden Mittel an Menschen schon geprüft worden sind (Morax, Bernatzky) und zwar Ersteres mit widersprechenden Resultaten (s. S. 36 u. 37).

Ueber die Theorie der Calomelwirkung haben wir zwei eingehende Arbeiten: die von Wassilieff[3]) und die von Zawadsky[4]). Der erstgenannte Autor hat gefunden, dass das HgCl bei der künstlichen Verdauung den eigentlichen Verdauungsprocessen nicht hinderlich ist, während andere (chemische) Processe, z. B. die Fäulniss in dessen Anwesenheit nicht stattfinden können (S. 125). Ueberhaupt muss das Calomel angesehen werden: 1. als ein Mittel, welches die Entwickelung von Spaltungspilzen in den Verdauungsflüssigkeiten verhindert, und 2. die Lebensthätigkeit der schon entwickelten Bacterien hemmt — ein anti- und aseptisches

---

[1]) Versuche über die Abhängigkeit des SO_3-Gehaltes des Urins von der SO_3-Zufuhr. Dissert., 1859.

[2]) Zur physiolog. Wirkung der Abführmittel. Arch. f. Anat. u. Physiol., 1870.

[3]) Ob antisept. diejstwii kalomela. Jeshenedielnaja klinic. gazeta, 1882, No. 12 (russisch).

[4]) O wlianii kalomela na gnienije scheltschi. Wratsch 1887, No. 16 (russisch).

Mittel, welches die Entwickelung der organisirten Fermente hemmt, ohne die Wirkung der nicht organisirten zu behindern. Hoppe-Seyler hat nachgewiesen, dass die grüne Färbung der Fäcalmassen bei Calomeldarreichung von der Anwesenheit unzersetzter Galle abhängt — bei normalen Darmprocessen geht das Bilirubin und Biliverdin in Hydrobilirubin über, bei Anwendung des Calomel aber sind Fäulnissprocesse im Darm ausgeschlossen und werden daher diese Pigmente in Folge der gesteigerten Peristaltik als solche in den Fäces ausgeführt. In den Versuchen an Hunden, welchen Calomel gegeben wurde, überzeugte sich Wassilieff von der Anwesenheit von Leucin und Tyrosin im Darminhalte, während das Indol, welches Brieger in Hundefäces fast immer findet, nicht nachgewiesen werden konnte. Radziewsky hat beim Calomel dasselbe gefunden. Zawadsky dagegen hat gefunden, dass ein Gemisch von Galle mit Calomel in vitro (6%) nach 3—4—5 Tagen zu faulen beginnt, wobei Albuminate nicht gebildet werden; das Calomel, in Wasser sehr wenig löslich, geht in alkalischer Flüssigkeit in Quecksilberoxydul über und wird dann in einer zur Hemmung der Fäulniss genügenden Menge gelöst; die Versuche mit dem Bilirubin in alkalisch reagirenden Flüssigkeiten haben gezeigt, dass das Calomel in diesem Falle in Quecksilberoxydul übergeht, welches seinerseits sich in Sauerstoff, Quecksilberoxydul und Quecksilber zerlegt, indess das Bilirubin in Biliverdin oxydirt wird; in den Versuchen an Hunden wurde eine deutliche Grünfärbung, alkalische Reaction der Fäces, eine Quecksilberoxydulverbindung und eine unbedeutende Quantität Biliverdin erhalten; die wässerige alkalische oder neutrale Quecksilberoxydullösung, desgleichen die alkalische Calomel- oder Quecksilberoxydullösung (in Aetznatrium oder kohlensaurem Natron) sind im Stande, die Alkoholgährung aufzuheben oder sie wenigstens zu hemmen. Die Färbung der Fäcalmassen wird bedingt durch Oxydirung des Bilirubin in Biliverdin mit Ausscheidung metallischen Quecksilbers (welches die abführende Wirkung befördert und die geringe Giftigkeit des Calomel bedingt) und durch unzersetztes Gallen-Biliverdin;

wenn eine Calomelfärbung der Fäces nicht eintritt, so weist das auf das Vorherrschen von reducirenden Processen und ungünstigen Reactionsbedingungen im Darme und dessen Inhalte hin.

Was das Ricinusöl anbetrifft, so ist es als leichtes und angenehmes Abführmittel bekannt (Nothnagel und Rossbach — Lehrbuch der Pharmakologie), welches selbst bei Darmcatarrhen verordnet werden kann, dessen wirksame Bestandtheile aber wir wenig kennen. Wahrscheinlich ist es [Hager[1])] ein in Aether leicht lösliches Harz (deshalb wirken schon 10,0 aus den Samen mittelst Aether extrahirten Oeles drastisch), während die Fettsäuren, welche man bei Verseifung des Ricinusöles erhält (Ricin-, Margaritinsäure u. A.) eine abführende Wirkung nicht äussern.

Die Versuchspersonen waren junge Leute, welche in Hinsicht auf Wohnung, Luft, Schlaf und Arbeit in ungefähr gleichen Bedingungen lebten. Da ich das mir zu Gebote stehende Material auch noch zur Bestimmung der mittleren Quantität Schwefelsäure und Aetherschwefelsäure beim normalen Menschen verwerthen wollte, stellte ich sie unter keine besonders strenge Diät, sondern liess sie die ihnen schon früher gewohnte gemischte animalisch-vegetabilische Nahrung nehmen, wobei nur der Genuss von frischem Gemüse und Obst (um etwaig mögliche zufällige Diarrhöen zu vermeiden) beschränkt und alkoholische Getränke gänzlich ausgeschlossen waren (in Betracht der Möglichkeit bedeutender Schwankungen in Quantität und Zusammensetzung des Harnes), während ich den Genuss von Thee gar nicht beschränkte, da es Daten gibt, welche direct darauf hinweisen, dass reichliche Wasserzufuhr die. Menge der Schwefelsäure nicht steigere.

Der Einfluss der Art der Nahrung auf die Ausscheidung der Schwefelsäure ist von mehreren Forschern studirt worden: Heffter[2]) hat bei Versuchen an Menschen und Thieren

---

[1]) Handbuch der pharmaceutischen Praxis, I.

[2]) Die Ausscheidung des Schwefels im Harn. Arch. f. d. gesammte Physiol., 1885, Bd. XXXVIII, S. 476—502.

Aenderungen in der Schwefelquantität unter Einfluss verschiedener Diäten beobachtet. Bernatzky[1]) hat ebenfalls bei verschiedenen Hospitaldiäten (4 Arten) bedeutende Verschiedenheiten in der Quantität der ausgeschiedenen Aetherschwefelsäuren constatirt; von diesen Diäten erwies sich die Milchdiät als die Fäulniss im Darm am geringsten befördernd. Hirschler[2]) überzeugte sich durch directe Versuche in vitro, dass die Beimischung von Stärke, Dextrin, Zucker die Fäulniss des mit Pancreassaft vermischten Fleischextractes hemmt, so dass sich wohl bei gemischter Fleisch- und Kohlehydratnahrung die Bedingungen für Fäulnissprocesse weniger günstig gestalten, als bei ausschliesslicher Fleisch- oder ausschliesslicher Kohlehydratnahrung, obwohl den Versuchen von G. Bunge[3]) nach die Quantität der Schwefelsäure bei der Fleischdiät = 4,674, bei ausschliesslichem Consum von Brod = 1,205 im Tagesharnquantum war, Ziffern, welche auf bedeutende Schwankungen der gesammten Schwefelsäurequantität hinweisen (Bestimmungen der Aetherschwefelsäuren hat dieser Autor nicht ausgeführt).

So begannen denn meine Versuchspersonen 2—3 Tage vor den Versuchen ein Regime gemischter Nahrung, welche aus 2 Glas (1/2 Liter) Thee mit 200 gr. Weissbrod des Morgens und Abends und aus einem Mittag von zwei Speisen mit 300 gr. Roggenbrod bestand. Die Kost der in der Klinik befindlichen Kranken bestand aus der «2. Ordin. Portion», d. h. aus Habersuppe am Morgen (Hafergries 50,0, Kochsalz und Kuhbutter zu 8,6), einem Weissbrod von 100,0, zum Mittag Suppe und Fleisch (Fleisch 350,0, Gries 86,0 oder Kartoffeln 612,0, Salz 17,2, Gemüse 51,6, Weissbrod 612,0), Thee im Mittel 1 1/2—2 Kannen (0,6—1,2 Liter) mit entsprechender Quantität Zucker (12,0—20,0). Daraus ist also ersichtlich, dass die Kost der fünf (I—V) Ambulanten und

---

[1]) O normalnom kischetschnom broshenii. Med. Obosrenije, 1891, No. 39.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 10, S. 306.

[3]) Handbuch der physiologischen Chemie, 2. Aufl., S. 315—321.

der übrigen fünf (VI—X) im Hospital Befindlichen sich wesentlich nicht unterschied, ja sogar identisch war[1]).

Bevor ich zu den Ergebnissen meiner Versuche übergehe, will ich kurze Daten über jede der untersuchten Personen und Kranken vorausschicken und dabei auf die Abweichungen von dem vorgeschriebenen Plane, welche vorkamen, hinweisen.

I. M. A., 25 Jahre alt, Student, von gutem Körperbau, mässiger Ernährung, Körpergewicht 62,3 Kilo, Wuchs 174 cm., Brustumfang 89 cm., Lungencapacität 3600 cbcm. Hat früher an chronischer Bronchitis gelitten, fühlte sich aber während den Versuchen vollkommen gut und zeigte keine pathologischen Erscheinungen, nur an den zwei letzten Versuchstagen am 6. und 7. Juli war Husten mit Auswurf und Temperatursteigerung eingetreten.

II. B. St., Arzt, 32 Jahre alt, von mittlerem Körperbau, Körpergewicht 72,0 Kilo, Wuchs 168 cm., Brustumfang 88 cm., Lungencapacität 2800 cbcm. War während der Versuche vollkommen gesund; zeigt überhaupt Neigung zu Obstipation.

III. M., Student, von gutem Körperbau und guter Ernährung, 25 Jahre alt, Körpergewicht 66,5 Kilo, Wuchs 173 cm., Brustumfang 87 cm., Lungencapacität 4100 cbcm. Ist vollkommen gesund und weist auch die Anamnese auf keine Krankheiten hin. Am dritten Versuchstage wurde bemerkt, dass der Harn sehr stark nach Knoblauch rieche; M. erklärte, dass er (als Südbewohner — Serbe) den Knoblauch gern esse und täglich zum Mittage 2—3 Zwiebeln verzehre.

IV. H. W., Lazarethgehilfe, von zartem Körperbau und mässiger Ernährung, 18 Jahre alt, Körpergewicht 63,25 Kilo, Wuchs 172 cm., Brustumfang 88 cm., Lungencapacität 4300 cbcm. Ein junger Mann von blühendem Aussehen; stationär

[1]) Ich halte es nicht für überflüssig, hierbei zu bemerken, dass unserer Meinung nach eine specielle — in Bezug auf Quantität, Qualität und Zubereitungsweise — Kost die Versuchs-Resultate wesentlich modificiren kann; ausser der Störung im Stickstoffgleichgewicht haben hier auch noch andere Ursachen eine Bedeutung — die schwere Verdauung angewöhnter Nahrung, Widerwillen gegen einförmige u. s. w.

im klinischen Hospital lebend, befand er sich mit No. V, auch in Hinsicht auf Wohnung, in mit allen Kranken gleichen Bedingungen.

V. K. W., von gutem Körperbau und guter Ernährung, 19 Jahre alt, Körpergewicht 80,0 Kilo, Wuchs 184 cm., Brustumfang 90 cm., Lungencapacität 4700 cbcm. Gesundheitszustand sehr gut, in der Anamnese keine Krankheiten.

VI. M. J., Rekrut, 22 Jahre alt, Wuchs 163 cm., Gewicht 50,3 Kilo, Lungencapacität 1900 cbcm., Brustumfang 83 cm. Befand sich im Hospital pro observatione und zeigte in der ersten Zeit ausser Erscheinungen von Anämie nichts Abnormes; gerade zu dieser Zeit wurden die Versuche ausgeführt; einen Monat später erkrankte er an Magencatarrh, noch später, nach 2 Monaten, an geringgradiger catarrhalischer Affection der rechten Lungenspitze; ausserdem wurden bei ihm von der Aufnahme in's Hospital an einige Erscheinungen der Neurasthenie und aus der Anamnese Gonorrhöe constatirt.

VII. B. S., 22 Jahre alt, von gutem Körperbau und guter Ernährung, Körpergewicht 55,2 Kilo, Wuchs 166 cm., Brustumfang 83 cm., Lungencapacität 3100 cbcm. Folgende Daten aus dem Krankenbogen seien angeführt: 9. S., Gemeiner der Grenzwache, ist in das klinische Hospital mit den Erscheinungen einer Affection der Aortenklappen eingetreten; am 25. Juni trat Diarrhöe ein; der Darm aufgetrieben, Schmerz auf Druck und Kollern in beiden fossae iliacae; Temperatur am 26. — $\frac{38{,}0^\circ}{39{,}5^\circ}$, am 27. — $\frac{37{,}8^\circ}{38{,}0^\circ}$, am 28. — drei flüssige Stühle, Temperatur zur Norm herabgesunken, am 29. traten Schmerzen im Unterleib auf, drei flüssige Stühle; die Diarrhöe dauerte mit unbedeutenden Schwankungen in der Intensität bis zum 5. Juli fort, hörte sodann auf, aber der Kranke blieb seines Grundleidens wegen im Hospital. Diagnose: Enteritis acuta. Die Behandlung (bis zum Eintritt des Kranken unter meiner Beobachtung) bestand in Verabreichung des Magist. bismuthi zu 0,3, zweimal am Tage, Ricinusölemulsin mit Opiumtinctur (30,0 : 1,0 : 400,0) und während der ersten

zwei Tage kleiner Dosen (0,3) von Chininum muriaticum; während der Untersuchung auf Aetherschwefelsäuren erhielt der Patient keine Medicamente.

VIII. S. L., Lehrling aus einem Bade, 16 Jahre alt, Körpergewicht 40,5 Kilo, Wuchs 151 cm., Brustumfang 75 cm., Lungencapacität 2800 cbcm. Kurze Daten über den Krankheitsverlauf: Von gutem Körperbau und guter Ernährung, leidet ungefähr zwei Wochen an Diarrhöe. Ist am 11./VII. erkrankt, während der ersten drei Tage hörte die Diarrhöe auf; seit dem 14./VII. war die Zahl der Entleerungen = 2—3 in 24 Stunden; die inneren Organe normal, in beiden fossae iliacae Empfindlichkeit gegen Druck, der Darm aufgetrieben; Temperatur normal, von Zeit zu Zeit reichliche Transpiration, die Fäcalmassen bräunlich gelb mit Stücken unverdauter Speisereste, seit dem 17./VII. wurde die Zahl der Entleerungen = 2, am 19./VII. aber wurde die Diarrhöe wieder stärker — 5 Stühle in 24 Stunden, doch war die Schmerzempfindlichkeit der fossae iliacae verschwunden; am 22./VII. hörte die Diarrhöe auf. Diagnose: Enteritis chronica. Die Behandlung bestand in Folgendem: Täglich zweimal (während des ganzen Aufenthaltes in der Klinik) zu 0,5 Tannin mit Chininum muriaticum und Klysmen aus 7,0 Tannin auf 300,0 Wasser; ausserdem hat Patient in den ersten Tagen nach der Aufnahme dreimal zu 1,0 Naphthalin erhalten.

IX. U. M., 24 Jahre alt, von ausgezeichnetem Körperbau und mässiger Ernährung, Körpergewicht 70,3 Kilo, Wuchs 171 cm., Brustumfang 89 cm., Lungencapacität 3900 cbcm. Patient, Gemeiner der Grenzwache, ist am 20./VII. in das klinische Hospital aufgenommen mit abnorm hoher Temperatur (39°), Schmerzempfindlichkeit in der Magengegend und dem unteren Theile des Unterleibs; Volumsveränderungen der inneren Organe nicht constatirbar; am dritten Tage nach der Aufnahme wurde die Temperatur normal; am 25./VII. drei flüssige Stühle, 26./VII. keine Diarrhöe, sondern Obstipation; am 27. und 28./VII. zu je 16,0 Ricinusöl und daher 2—3 flüssige Stühle täglich; vom 30./VII. bis 31./VII. normale Stühle, vom 3./VIII. bis zum 12./VIII. wieder Diarrhöe (3—5 Entleerungen

täglich), welche erst am 14./VIII. gänzlich aufhörte, wobei die Temperatur bis zum 6./VIII. gesteigert war (38—39°) und in der linken fossa iliaca Schmerz und Aufgetriebensein der Därme empfunden wurde. Diagnose: Enteritis subacuta. Therapie: Vom 22.—27./VII. salicylsaures Natron zu 0,3 zweimal täglich; vom 30./VII. bis zum 20./VIII. bis zum Verlassen der Klinik Chininum muriaticum und Tannin zu gleichen Theilen zu 0,3 zweimal täglich.

X. W. D., 24 Jahre alt, Körpergewicht 79,5 Kilo, Wuchs 167 cm., Brustumfang 87 cm., Lungencapacität 3200 cbcm. Einige Daten aus dem Krankenbogen: Von ziemlich schwachem Körperbau und mässiger Ernährung, Kanonier der St. Petersburger Festungsartillerie, ist am 19./VII. plötzlich mit Frost, Temperaturerhöhung, Uebelkeit, Unterleibsschmerzen und Diarrhöe erkrankt; Schmerzempfindlichkeit in der fossa iliaca; am 20./VII. kein Stuhl, am 21./VII. und 22./VII. je eine Gabe Ricinusöl zu 32,0, in Folge dessen an diesen Tagen zwei bis drei flüssige Entleerungen erfolgten, am 25./VII. und 26./VII. keine Diarrhöe. Diagnose: Enteritis acuta. Therapie: Ausser den genannten Ricinusölgaben compresse échauffante auf den Unterleib und zwei Gaben Chinini muriatici (0,3) in den ersten Tagen des Aufenthaltes in der Klinik.

Bei den Versuchen an Gesunden wurden Perioden genommen, welche aus 2 Tagen vorläufiger Diät, aus zwei normalen und zwei Tagen mit künstlicher Diarrhöe bestanden, zuweilen aber ging die Diarrhoeperiode der normalen voraus; wenn an ein und derselben Person Versuche mit zwei Abführmitteln ausgeführt wurden, liessen wir zwischen der ersten und zweiten Versuchsreihe eine ziemlich lange Zeit der Ruhe vergehen (4 bis 20 Tage).

Die Kranken konnten nicht in allen Fällen vom ersten Tage der Krankheit an beobachtet werden, doch war ich wenigstens bemüht, die Harnanalyse während der ganzen Dauer der Diarrhöe und während einigen (3—4) Tagen des Normalzustandes nach aufgehörter Krankheit auszuführen. Der Harn wurde von 10 Uhr Morgens bis 10 Uhr Morgens des folgenden Tages in mit Glas- oder Thondeckel bedeckte Gefässe

gesammelt, wobei die Versuchspersonen als intelligente Leute in Bezug auf die hierbei nothwendige Sorgfalt meinerseits keiner Controlle unterworfen waren, während die Hospitalkranken unter Beobachtung des Hospitaldienstpersonals standen. Die gesammelte Harnmenge wurde sorgfältig durchgemischt und in einem graduirten Cylinder gemessen, dann wurde das spec. Gewicht und die Reaction des Harnes bestimmt, Ersteres, um eine etwa bestehende Abhängigkeit des spec. Gewichtes von der gesammten Quantität oder dem Procentgehalte an Schwefelsäure zu eruiren — es erwies sich aber, dass eine solche Abhängigkeit nicht existirt (arithmetische Berechnungen, die ich hier nicht anführen will, haben gezeigt, dass diese Ziffern in gar keiner Relation mit einander stehen); mit Sicherheit ist nur eine Verminderung der Harnquantität an den Tagen mit Einführung des Abführmittels und der Diarrhoe zu notiren, welche Verminderung mit Verminderung der Aetherschwefelsäuren zusammenfiel, doch war auch dies in unregelmässiger Form aufgetreten; — das Zweite, um zu bestimmen, ob nicht alkoholische Gährung des Harnes eingetreten war, welche dessen Zusammensetzung in irgend einer Weise beeinflussen konnte (Bacterien); die Bildung von Producten der sauren Gährung (Ausfall von Harnsäurekrystallen) ist nur in 2—3 Fällen beobachtet worden; in Betracht des sehr heissen Sommers kann man diesen Umstand als für meine Versuche sehr günstig betrachten, da der Einfluss der Gährung auf die Zusammensetzung des untersuchten Harnes vermieden wurde (die Hinzufügung von Phenol oder anderen desinficirenden Substanzen der aromatischen Reihe erschien nicht zulässig, da leicht Reactionen eintreten konnten, welche den Gehalt an Aetherschwefelsäuren zu beinflussen im Stande waren).

Die Abführmittel wurden von den Versuchspersonen in meiner Gegenwart um 10 oder $10^1/_2$ Uhr Morgens eingenommen und theilten mir diese am folgenden Tage mit, wie sie gewirkt haben; die Fäces der Spitalkranken wurden in Glasgefässe gesammelt und von mir persönlich controllirt. — Endlich ist noch zu notiren, dass die Lufttemperatur in der ersten Julihälfte vom 2./VII. bis zum 16./VII. sehr hoch war (24—26° R.),

und dass es während dieser Zeit fast gar nicht geregnet hatte; bei einigen von mir untersuchten Personen war das Tagesquantum des Harnes während dieser Zeit vermindert, bei höherem spec. Gewicht und gesteigerter Acidität; einen sichtbaren Einfluss auf die Quantität der von uns untersuchten Säuren und deren gegenseitiges Verhalten hat dieser Umstand aber nicht ausgeübt.

Gehen wir nun zu den Ergebnissen unserer Untersuchungen an jedem der Versuchspersonen und der Kranken über.

Zuerst möchte ich aber noch vorausschicken, dass ich den erhaltenen Zahlendaten blos eine relative Bedeutung beimesse, sogar in den Grenzen jeder einzelnen Beobachtungsperiode.

I. In Folge bedeutender Differenzen in der Aussentemperatur unterscheidet sich die Harnmenge in den ersten vier Tagen der Beobachtung von den vier letzten Tagen bedeutend, doch wird eine entsprechende Ausgleichung durch reichlicheren Gehalt an Schwefelsäure nicht beobachtet, so z. B. enthielten 820 cbcm. Harn $\frac{0,145}{0,061}$ % SO_3, 1200 cbcm. $\frac{0,216}{0,042}$ % SO_3. Bei Calomelverabreichung wurde schon in der ersten Periode die Harnmenge geringer, am zweiten Tage der Calomeleinführung sinkt sowohl die gesammte Quantität der Schwefelsäure als auch die der gebundenen in bedeutendem Grade (wird mehr als um 3 mal geringer) — das Verhältniss $\frac{a+b}{b}$ wird grösser, die relative Quantität der Aetherschwefelsäure wird geringer. Nach Einführung von Ricinusöl (nach einem Zeitraum von 4 Tagen) sinkt am zweiten Tage das Tagesquantum von SO_3 und wird bei unbedeutender Vermehrung der Aetherschwefelsäure das Verhältniss $\frac{a+b}{b}$ kleiner; da bei der Versuchsperson Verdauungsstörungen eintreten, mussten wir mit den Controllbestimmungen abwarten, noch am dritten Tage aber erfolgten zwei flüssige Entleerungen und blieb das frühere Verhältniss bestehen.

II. Einer Idiosynkrasie gegen das Ol. Ricini wegen, konnte diesem Individuum dieses Mittel nicht gegeben werden, dafür wurde in zwei verschiedenen Perioden Calomel gegeben. Bei einer Gabe von 0,5 erlitt die Proportion $\frac{a + b}{b}$ nur eine unbedeutende Veränderung, bei Steigerung der Gabe bis auf 0,7 wurde sie mehr als verdoppelt; die Tagesquantität sowohl der gesammten Schwefelsäure als auch der Aetherschwefelsäuren zeigte überaus regelmässige Schwankungen, indem sie bei jeder Calomelgabe geringer wurde; nach der ersten Calomelgabe bestand eine leichte Diarrhöe, während dessen das Verhältniss sich auf der früheren Höhe hielt.

III. Hier wurde nach der Calomelgabe ein umgekehrtes Verhalten beobachtet, die Quantität der Aetherschwefelsäuren war nämlich gestiegen; diesen Umstand kann man durch den oben erwähnten Diätfehler erklären. Bekanntlich hat der Knoblauch (allium sativum) folgende Bestandtheile: Zucker, Dextrin, braungelbes flüchtiges Oel (0,28%) mit deutlichem Knoblauchgeruch, dessen hauptsächlicher Bestandtheil das Allylsulfid ($C_6H_{10}S$) ist, eine Substanz, welche einen prägnanten Einfluss auf die Schleimhäute äussert, als Bestandtheil Schwefel enthält und ziemlich starke antiseptische Eigenschaften besitzt; da M. sich der zweiten Versuchsreihe ohne seine nationale Würze nicht unterziehen wollte, so führe ich diesen Versuch hauptsächlich in Betracht der zufälligen Beobachtung am Knoblauch an, welche eine so grosse Rolle spielt unter den Nahrungsmitteln der südlichen Völker Europa's.

IV. Die Tagesschwankungen von SO_3 sind hier unbedeutend — $\frac{1,313}{0,182}$ — $\frac{2,268}{0,224}$, dem entsprechend bewirkte die Calomeldarreichung eine unbedeutende Verminderung der Quantität der Aetherschwefelsäuren; die Proportion $\frac{a + b}{b}$ wurde nur sehr unbedeutend grösser. Das Ricinusöl hatte in einer Dosis von 30,0 schwach gewirkt — am folgenden Tage gab ich 60,0 — die Wirkung war besser und machte sich sogleich durch Verminderung beider Ziffern kund.

V. Die Tagesschwankungen der SO_3 sind hier bedeutend grösser: von $\frac{1,854}{0,108}$ bis $\frac{3,078}{0,785}$. Das Calomel hat die SO_3-Quantität stark vermindert und die Proportion $\frac{a + b}{b}$ gesteigert. Das Ricinusöl gab das Umgekehrte.

VI. Grosse Unregelmässigkeit in der Proportion $\frac{a + b}{b}$, die Tagesschwankungen von SO_3 dagegen unbedeutend $\frac{0,994}{0,065}$ bis $\frac{1,541}{0,360}$; das Calomel hat sie bedeutend vermindert, dabei wurde eine Nachwirkung beobachtet am dritten Tage, ohne dass eine neue Calomeldose gegeben wurde (eine solche Nachwirkung wurde auch in Fall II und III beobachtet — leider hatte ich in den übrigen Fällen der Calomelverabreichung die Fälle nur zwei Tage lang beobachten können, denn am dritten Tage wollten die Versuchspersonen die vorgeschriebene Diät nicht mehr einhalten).

VII. Der Fall wurde durch Auftreten von Eiweiss im Harn während der ersten zwei Tage complicirt — in den ersten 3 Tagen bestand Diarrhöe; die Quantität *a* ist in den ersten Tagen geringer, als in den drei letzten — normalen, die Quantität *b* fast unverändert, als Ergebniss davon erscheint eine Verkleinerung des Verhältnisses in den letzten Tagen. Während der Beobachtung erhielt Patient keine Medicamente, vordem aber, bis zum Beginn der Analyse, hatte er Emulsio ol. Ricini mit Opiumtinctur eingenommen — daher bin ich geneigt zu denken, dass das mit den zwei folgenden Fällen widersprechende Verhalten in diesem Falle durch eines dieser Mittel zu erklären sei.

VIII. Hier beobachten wir eine in die Augen springende Polyurie, welche davon abhängt, dass der kranke Knabe tagaus tagein beträchtliche Quantitäten Thee trinkt. In den ersten drei Tagen nach der Aufnahme in die Klinik war die Diarrhöe, welche fast zwei Wochen angehalten hatte, fast vollkommen vergangen — das Verhältniss zu dieser Zeit war wie 1 : 6,

während der darauffolgenden 5 Tage mit Diarrhöe drückt sich das Verhältniss durch 1 : 16 aus u. s. w., zeigt dabei aber ziemlich bedeutende Schwankungen. Da der Kranke in den ersten Tagen zu 1,0 Naphthalin erhalten und dies den Darminhalt nicht desinficirt hatte (es scheint mir nicht überflüssig, hier anzuführen, dass den Beobachtungen Rossbach's nach das Naphthalin, welches in unbedeutenden Quantitäten als Naphthochinon oder Naphthol durch den Harn ausgeschieden wird, dem Harne einem specifischen Geruch beigibt und ihn vor Fäulniss schützt — dass aber hier weder dies noch jenes beobachtet worden ist), so muss man also daraus schliessen, dass das Naphthalin die erwartete Wirkung nicht geäussert hat. Man kann hier daher Folgendes annehmen: Das temporäre Aufhören der Diarrhoe ohne wesentliche Besserung im Zustande des Darms hatte die Resorption der Fäulnissproducte erleichtert und die Folge davon war, dass das Verhältniss über die Norm stieg; nachdem nun die Diarrhöe vollständig vergangen war (am 22./VII.), nähert es sich wieder der normalen Grösse.

IX. Bei diesem Kranken war interessant, dass ihm sofort, nachdem die Diarrhöe aufgehört hatte, am 26./VII. Ricinusöl gegeben werden musste — es erfolgten reichliche Darmentleerungen und eine dem entsprechende Verminderung der Proportion, welche nach Normalwerden des Stuhles auf 1 : 7,9 stieg; als zum zweiten Mal Diarrhöe auftrat, erwies sich die relative Quantität Aetherschwefelsäuren vermindert und kehrte nach aufgehörter Diarrhöe zu den Ziffern 1 : 7,2—1 : 9,9 wieder zurück.

X. In diesem Falle wurde im Spital keine Diarrhöe beobachtet, dieselbe war schon vor der Aufnahme abgelaufen; es wurde Ricinusöl gegeben, wonach einige flüssige Entleerungen erfolgten — die Proportion = 7 : 10,2; nachdem die Diarrhöe aufgehört, wurde sie kleiner 1 : 21,3. Der Grund für dieses umgekehrte Verhalten muss in der vor der Aufnahme bestandenen Gastritis gesucht werden, welche der Kranke sich durch übermässigen Genuss vegetabilischer Nahrung zugezogen hatte.

Stellen wir nun die erhaltenen Ziffern nach den Diarrhöe-Perioden und den diarrhöefreien zusammen, indem wir die Mittelzahlen für jede Periode nehmen, so ergibt sich für die Versuchspersonen (Gesunde) folgendes Resultat: Von 7 Fällen von Diarrhöe, welche bei gesunden Menschen durch Einführung von Calomel bewirkt war, erhielten wir in sechs Fällen eine mehr oder weniger bedeutende Herabsetzung der absoluten Quantität der gesammten Schwefelsäure und der Aetherschwefelsäuren. Bei durch Ricinusöl bewirkter Diarrhöe dagegen wurde umgekehrt die Quantität der Aetherschwefelsäuren gesteigert. Im Mittel erhalten wir:

in normalem Zustande — $\frac{a+b}{b} = \frac{2,305}{0,282} = 8,5;$

nach dem Calomel . . — $\frac{a+b}{b} = \frac{1,785}{0,194} = 11,2;$

nach Ricinusöl . . . — $\frac{a+b}{b} = \frac{2,039}{0,288} = 7,0.$

(Die Berechnung ist auf H_2SO_4 gemacht.)

So ist denn der Unterschied zwischen den beiden Abführmitteln — dem Calomel und dem Ricinusöl — in Bezug auf ihre Wirkung auf die Darmfäulniss evident und die desinficirende Wirkung des Ersteren erwiesen, was mit den oben angeführten Untersuchungen von Wassilieff und Zawadsky in Einklang steht (der mechanischen Theorie Radziewsky's über die Wirkungsweise der Abführmittel aber widerspricht). Daher muss die Thatsache, dass die Quantität der Aetherschwefelsäuren bei der Verordnung von Ricinusöl steigt, der Verseifung der Fettsäuren im Darme und der erleichterten Resorption des Inhaltes durch die Darmwandung zugeschrieben werden.

Aus den Beobachtungen an Kranken erhalten wir, wenn wir No. X (s. S. 50) ausschliessen, folgende Mittelwerthe:

für die normale Periode . $\frac{a+b}{b} = \frac{2,716}{0,363} = 7,4;$

für die Diarrhöe-Periode . $\frac{a+b}{b} = \frac{2,441}{0,220} = 11,1.$

(Auf H_2SO_4 berechnet.)

Auch hier beobachtet man in jedem einzelnen Falle Verminderung der gesammten Schwefelsäure und der Aetherschwefelsäuren, obwohl die Schwankungen bedeutend sind.

Die Antworten auf die S. 39 gestellten Fragen lassen sich in folgender Weise formuliren:

1. Die absolute und relative Quantität der gesammten Schwefelsäure und der Aetherschwefelsäuren wird bei Diarrhöen gegen die Norm geringer, zugleich werden die Proportionen $\frac{a+b}{b}$ oder $\frac{a}{b}$ grösser.

2. Bei den durch Abführmittel bewirkten Diarrhöen ist Letzteres nur für die Calomeldiarrhöe giltig, denn das Ricinusöl ergab eine Quantitätssteigerung der Aetherschwefelsäuren und Verkleinerung der Proportion $\frac{a+b}{b}$.

3. Auf Grund dieser Thatsache kann man zwei Arten von Abführmitteln unterscheiden — solche, die den Darminhalt desinficiren, und solche, die diese Wirkung nicht äussern.

4. Eine diagnostische Bedeutung in dieses Wortes strenger Bedeutung können die Proportionen $\frac{a+b}{b}$ oder $\frac{a}{b}$ ohne genaue Controllversuche nicht haben, doch kann die Bestimmung der Aetherschwefelsäuren als Controllanalyse (z. B. bei Simulation von Krankheiten) einen nicht unbedeutenden Dienst leisten.

Datum.	Urinmenge pro 24 Stunden.	Specifisches Gewicht.	Schwefelsäure.		
			$BaSO_4$ für 100 cbcm.	SO_3 für 100 cbcm.	SO_3 Pro 24 Stunden
25./VI.	1200	1,022	0,632	0,216	**2,592**
26./VI.	1100	1,025	0,520	0,178	**1,958**
27./VI.	980	1,025	0,783	0,268	**2,616**
28./VI.	820	1,020	0,426	0,145	**0,889**
2./VII.	600	1,029	0,755	0,248	**1,488**
3./VII.	720	1,021	0,509	0,175	**1,259**
6./VII.	600	1,028	0,808	0,261	**1,566**
7./VII.	850	1,016	0,466	0,160	**1,360**
8./VII.	1400	1,018	0,414	0,139	**1.946**
9./VII.	1100	1,016	0,402	0,138	**1,518**
10./VII.	700	1,026	0,697	0,239	**1.673**
11./VII.	650	1,025	0,693	0,238	**1,547**
12./VII.	650	1,026	0,828	0,284	**1,846**
30./VII.	2200	1,011	0,226	0,077	**1,694**
31./VII.	2100	1,012	0,233	0,080	**1,680**
1./VIII.	1460	1,012	0,263	0,090	**1,314**
2./VIII.	1600	1,011	0,254	0,087	**1,392**
22./VII.	1900	1,011	0,272	0,093	**1,767**
23./VII.	2100	1,010	0,192	0,066	**1,386**
24./VII.	1950	1,010	0,269	0,092	**1,794**
25./VII.	2270	1,012	0,264	0,090	**2,043**
27./VII.	2000	1,010	0,174	0,060	**1,200**
28./VII.	1600	1,009	0,148	0.051	**0,816**
2./VIII.	1400	1,020	0,474	0,162	**2,268**
3./VIII.	1700	1,015	0,301	0,113	**1,921**
4./VIII.	1000	1,020	0,505	0,173	**1,730**
5./VIII.	1300	1,016	0,432	0,148	**1,924**
21./VIII.	1050	1,022	0,544	0,186	**1,953**
22./VIII.	900	1,022	0,472	0,162	**1,458**
23./VIII.	1500	1,015	0,297	0,102	**1,530**
24./VIII.	980	1,020	0,390	0,134	**1,313**
2./VIII.	2360	1,012	0,269	0,092	**2,171**
3./VIII.	1350	1,023	0,666	0,228	**3,078**
4./VIII.	1200	1,019	0,490	0,166	**1,992**
5./VIII.	1800	1,016	0,301	0,103	**1,854**
21./VIII.	1430	1,010	0,301	0,103	**1,473**
22./VIII.	1700	1,020	0,436	0,149	**2,533**
23./VIII.	1700	1,019	0,415	0,142	**2,414**
24./VIII.	1500	1,018	0,354	0,121	**1,815**

Aetherschwefelsäure.			Proportion $\frac{a+b}{b}$	Anmerkungen.
$BaSO_4$ für 100 cbcm.	SO_3 für 100 cbcm.	SO_3 pro 24 Stunden.		
				I. Tafel.
0,124	0,042	0,511	1 : 5	
0,160	0,054	0,605	1 : 3,2	
0,164	0,056	0,548	1 : 5	Calomel 0,5; 4 Stühle.
0,048	0,016	0,181	1 : 6,7	Calomel 0,5; 9 Stühle.
0,060	0,018	0,108	1 : 14	Ricinusöl 30,0; 4 Stühle.
0,048	0,016	0,115	1 : 11	Ricinusöl 15,0; 3 Stühle.
0,068	0,023	0,138	1 : 11	2 Stühle.
0,040	0,013	0,140	1 : 9,7	
				II. Tafel.
0,032	0,011	0,154	1 : 12	
0,032	0,011	0,121	1 : 12,5	Calomel 0,5; 3 Stühle.
0,044	0,015	0,105	1 : 15,5	Calomel 0,5; 3 Stühle.
0,046	0,016	0,104	1 : 14,7	Die Calomelwirkung dauert.
0,052	0,018	0,117	1 : 15,7	
0,024	0,008	0,176	1 : 9,8	
0,030	0,010	0,210	1 : 8	
0,018	0,006	0,087	1 : 15	Calomel 0,7; 5 Stühle.
0,012	0,004	0,064	1 : 21,8	Calomel 0,7; 5 Stühle.
				III. Tafel.
0,038	0,013	0,247	1 : 7,1	Calomel 0,7; 7 Stühle.
0,036	0,012	0,252	1 : 5,1	Calomel 0,7; 4 Stühle.
0,030	0,010	0,195	1 : 9,2	2 Stühle.
0,030	0,010	0,227	1 : 9,4	
0,022	0,007	0,140	1 : 8,5	Vier erste Tage des Versuches werden 4—5 Stück Zwiebeln gegessen.
0,020	0,006	0,096	1 : 8,5	Calomel 0,7; 6 Stühle.
				IV. Tafel.
0,048	0,016	0,224	1 : 10,1	
0,036	0,012	0,204	1 : 9,4	
0,056	0,019	0,190	1 : 9,1	Calomel 0,7; 5 Stühle.
0,042	0,014	0,182	1 : 10,5	Calomel 0,7; 2 Stühle.
0,041	0,014	0,147	1 : 13,2	Calomelwirkung dauert.
0,076	0,026	0,284	1 : 6,2	
0,052	0,018	0,270	1 : 5,6	Ricinusöl 30,0; 2 Stühle.
0,056	0,019	0,186	1 : 7	Ricinusöl 60,0; 5 Stühle.
				V. Tafel.
0,024	0,008	0,186	1 : 11,7	
0,046	0,016	0,216	1 : 14,2	
0,034	0,011	0,182	1 : 15,1	Calomel 0,7; 5 Stühle.
0,018	0,006	0,108	1 : 17,1	Calomel 0,7; 2 Stühle.
0,048	0,016	0,229	1 : 6,4	
0,042	0,014	0,238	1 : 10,6	
0,072	0,025	0,425	1 : 5,6	Ricinusöl 30,0; 3 Stühle.
0,056	0,019	0,285	1 : 6,3	Ricinusöl 60,0; 3 Stühle.

Datum.	Urinmenge pro 24 Stunden.	Specifisches Gewicht.	Schwefelsäure.		
			$BaSO_4$ für 100 cbcm.	SO_3 für 100 cbcm.	SO_3 pro 24 Stunden.
30./VI.	1200	1,020	0,359	0,123	**1,476**
1./VII.	1500	1,010	0,297	0,092	**1,370**
2./VII.	800	1,022	0,452	0,155	**1,240**
3./VII.	800	1,023	0,412	0,141	**1,128**
4./VII.	650	1,021	0,450	0,153	**0,994**
5./VII.	670	1,024	0,672	0,230	**1,541**
6./VII.	760	1,022	0,561	0,192	**1,469**
2./VII.	1100	1,020	0,515	0,177	**1,947**
3./VII.	1150	1,020	0,556	0,191	**2,196**
4./VII.	1050	1,022	0,738	0,253	**2,656**
5./VII.	700	1,022	0,677	0,232	**1,624**
6./VII.	1300	1,020	0,685	0,235	**3,055**
7./VII.	1200	1,020	0,691	0,237	**2,844**
11./VII.	950	1,018	0,569	0,194	**1,843**
12./VII.	2000	1,010	0,336	0,115	**2,300**
13./VII.	1750	1,015	0,445	0,153	**2,677**
14./VII.	2100	1,012	0,467	0,160	**3,360**
15./VII.	1450	1,011	0,325	0,111	**1,609**
16./VII.	2100	1,010	0,292	0,100	**2,100**
17./VII.	2000	1,012	0,298	0,102	**2,040**
18./VII.	1300	1,012	0,396	0,136	**1,668**
22./VII.	2100	1,010	0,344	0,118	**2,478**
23./VII.	2100	1,011	0,326	0,112	**2,352**
24./VII.	2260	1,016	0,557	0,191	**4,202**
25./VII.	2300	1,016	0,544	0,187	**4,301**
25./VII.	640	1,024	0,767	0,263	**1,863**
26./VII.	940	1,024	0,289	0,099	**0,941**
27./VII.	1300	1,019	0,400	0,137	**1,781**
28./VII.	2150	1,014	0,260	0,089	**1,914**
29./VII.	2000	1,012	0,264	0,091	**1,820**
30./VII.	2200	1,012	0,235	0,081	**1,782**
31./VII.	2000	1,012	0,232	0,079	**1,580**
4./VIII.	850	1,025	0,762	0,261	**2,218**
5./VIII.	600	1,020	0,480	0,165	**0,990**
6./VIII.	1200	1,014	0,379	0,130	**1,560**
19./VIII.	2400	1,007	0,209	0,072	**1,728**
20./VIII.	3060	1,009	0,236	0,081	**2,480**
21./VII.	1800	1,012	0,308	0,106	**1,908**
22./VII.	1750	1,014	0,387	0,133	**2,327**
23./VII.	1300	1,017	0,392	0,134	**1,742**
24./VII.	2300	1,008	0,348	0,119	**2,787**
25./VII.	1940	1,011	0,639	0,219	**4,249**

Aetherschwefelsäure.			Proportion	Anmerkungen.
$BaSO_4$ für …0 cbcm.	SO_3 für 100 cbcm.	SO_3 pro 24 Stunden.	$\frac{a+b}{b}$	
				VI. Tafel.
0,088	0,030	0,360	1 : 4,1	Urin ist trübe.
0,028	0,010	0,150	1 : 9,1	
0,060	0,020	0,160	1 : 7,7	Calomel 0,5; 3 Stühle.
0,044	0,015	0,120	1 : 9,4	Calomel 0,5; 2 Stühle.
0,028	0,010	0,065	1 : 15,2	Calomelwirkung dauert.
0,066	0,023	0,154	1 : 10	
0,052	0,018	0,137	1 : 10,7	
				VII. Tafel.
0,064	0,022	0,242	1 : 8	Spuren von Eiweiss im Urin.
0,068	0,023	0,264	1 : 8,3	
0,084	0,029	0,304	1 : 8,7	Diarrhoea hört auf.
0,076	0,026	0,182	1 : 8,9	
0,056	0,020	0,238	1 : 12,8	
0,054	0,018	0,216	1 : 13,1	
				VIII. Tafel.
0,096	0,033	0,313	1 : 5,8	
0,056	0,019	0,380	1 : 6	7 Glas Thee getrunken.
0,070	0,024	0,420	1 : 6,3	
0,030	0,010	0,210	1 : 16	
0,040	0,014	0,203	1 : 7,4	
0,020	0,007	0,147	1 : 14,3	8 Glas Thee getrunken.
0,018	0,006	0,120	1 : 17	
0,030	0,010	0,180	1 : 12,8	Diarrhoea verstärkt sich.
0,050	0,017	0,357	1 : 6,9	Diarrhoea hört auf.
0,064	0,022	0,462	1 : 5,1	
0,078	0,027	0,610	1 : 6,8	16 Glas Thee getrunken.
0,080	0,027	0,621	1 : 6,9	
				IX. Tafel.
0,112	0,038	0,243	1 : 6,8	
0,076	0,025	0,235	1 : 4	Urin stark pigmentirt.
0,046	0,016	0,208	1 : 8,5	Ricinusöl 16,0; 9 Stühle.
0,036	0,012	0,258	1 : 7,3	Ricinusöl 16,0; 5 Stühle. 7 Glas Thee.
0,018	0,006	0,120	1 : 15,1	6 Glas Thee; 3 Stühle.
0,028	0,010	0,220	1 : 8,1	
0,026	0,010	0,200	1 : 7,9	
0,054	0,018	0,158	1 : 14,5	Der zweite Tag der Diarrhoea.
0,044	0,015	0,090	1 : 11	
0,024	0,008	0,096	1 : 16,2	
0,030	0,010	0,240	1 : 7,2	Normalstuhl.
0,024	0,008	0,245	1 : 9,9	12 Glas Thee.
				X. Tafel.
0,042	0,015	0,270	1 : 7	3 Stühle.
0,038	0,013	0,227	1 : 10,2	3 Stühle.
0,038	0,013	0,169	1 : 10,3	3 Stühle.
0,034	0,012	0,276	1 : 9,8	12 Glas Thee getrunken.
0,026	0,010	0,194	1 : 21,3	Normalstuhl.

Datum.	SO_3 in toto.	SO_3 als Aether-schwe-fel-säure.	Pro-portion $\frac{a+b}{b}$	H_2SO_4 in toto.	H_2SO_4 prä-formirt.	H_2SO_4 gebund. als Aether-schwe-fel-säure.	Pro-portion $\frac{a}{b}$		Anmerkungen.
25. 26./VI.	2,285	0,558	1 : 4,1	2,811	2,125	0,686	1 : 3,1	I.	
27. 28./VI.	1,702	0,339	1 : 5,3	2,193	1,776	0,417	1 : 4,2		Calomel.
2. 3. 6./VII.	1,439	0,120	1 : 12	1,770	1,623	0,147	1 : 12		Ricinusöl.
7./VII.	1,360	0,110	1 : 12,2	1,673	1,538	0,135	1 : 10,4		
8./VII.	1,946	0,157	1 : 12	2,393	2,200	0,193	1 : 11,4	II.	
9. 10. 11. 12./VII.	1,646	0,112	1 : 14,5	2,024	1,886	0,138	1 : 13,7		Calomel.
30. 31./VII.	1,687	0,193	1 : 8,9	2,075	1,838	0,237	1 : 7,7		
1. 2./VIII.	1,353	0,075	1 : 18	1,664	1,572	0,092	1 : 17		Calomel.
22. 23. 24./VII.	1,648	0,231	1 : 7	2,027	1,743	0,284	1 : 6,1	III.	Diätstörung
25. 27./VII.	1,621	0,183	1 : 9	1,994	1,769	0,225	1 : 7,8		(Calomel).
2. 3./VIII.	2,094	0,214	1 : 9,7	2,574	2,311	0,263	1 : 8,7	IV.	
4. 5./VIII.	1,827	0,186	1 : 9,9	2,247	2,018	0,229	1 : 8,8		Calomel.
21. 22./VIII.	1,695	0,190	1 : 8,8	2,085	1,851	0,234	1 : 7,8		
23. 24./VIII.	1,421	0,228	1 : 6,3	1,748	1,468	0,280	1 : 5,2		Ricinusöl.
2. 3./VIII.	2,624	0,201	1 : 13	3,227	2,980	0,247	1 : 12,1	V.	
4. 5./VIII.	1,923	0,120	1 : 16	2,365	2,218	0,147	1 : 15,1		Calomel.
21. 22./VIII.	2,003	0,233	1 : 8,5	2,464	2,178	0,286	1 : 7,6		
23. 24./VIII.	2,114	0,355	1 : 5,9	2,601	2,164	0,437	1 : 4,9		Ricinusöl.
30./VI. 1./VII.	1,423	0,255	1 : 5,6	1,750	1,436	0,314	1 : 4,6	VI.	
2. 3. 4./VII.	1,124	0,115	1 : 9,8	1,382	1,241	0,141	1 : 8,8		Calomel.
2. 3. 4./VII.	2,366	0,270	1 : 8,3	2,910	2,578	0,332	1 : 7,6	VII.	Diarrhoea.
5. 6. 7./VII.	2,761	0,212	1 : 11,6	3,396	3,135	0,261	1 : 12		
11.—13./VII.	2,273	0,371	1 : 6	2,796	2,340	0,456	1 : 5,1		
14.—18./VII.	2,155	0,162	1 : 13,5	2,651	2,452	0,199	1 : 12,3	VIII.	Diarrhoea.
22.—25./VII.	3,233	0,510	1 : 6,4	3,976	3,349	0,627	1 : 5,3		
25. 26./VII.	1,324	0,239	1 : 5,6	1,628	1,334	0,294	1 : 4,8	IX.	
27. 30./VII.	1,828	0,176	1 : 10,5	2,248	2,032	0,216	1 : 9,4		Diarrhoea.
31./VII.	1,580	0,201	1 : 7,9	1,943	1,696	0,247	1 : 6,8		
4. 5. 6./VIII.	1,589	0,113	1 : 13,9	1,954	1,815	0,139	1 : 13		Diarrhoea.
19. 20./VIII.	2,079	0,240	1 : 8,5	2,557	2,262	0,295	1 : 7,6		
21.—23./VII.	1,992	0,333	1 : 6,0	2,450	2,040	0,410	1 : 5,0	X.	Diarrhoea.
24. 25./VII.	3,493	0,235	1 : 14,7	4,296	4,007	0,289	1 : 13,4		

Ueber die Aufnahme des Eisens in den Organismus des Säuglings.

Nachtrag.

Von

G. Bunge.

(Der Redaction zugegangen am 23. Mai 1892.)

In zwei früheren Mittheilungen[1]) habe ich gezeigt, dass der geringe Eisengehalt der Milch zum Wachsthum des Säuglings nicht hinreicht. Der Säugling ist nur dadurch im Stande, die eisenhaltigen Gewebe zu entwickeln, dass er bei der Geburt einen grossen Eisenvorrath mitbekommt, welcher in seinen Organen aufgespeichert ist, und von dem er beim Wachsthum seines Körpers zehrt.

Für die Richtigkeit dieser Auffassung wurde die Thatsache geltend gemacht, dass die jungen Meerschweinchen, welche gleich nach der Geburt neben der Milch eisenreiche Vegetabilien verzehren, einen weit geringeren Eisenvorrath haben als die jungen Kaninchen, Katzen und Hunde, welche längere Zeit ausschliesslich von Milch leben.

Es schien mir jedoch zweifelhaft, ob das wirklich die *einzige* Bedeutung des Eisenvorrathes sei, die geringe Eisenmenge der Milch zu ergänzen. Es wäre denkbar, dass dieser Vorrath zugleich noch eine andere Aufgabe erfüllt, dass er noch irgend eine andere Rolle in einem gewissen Entwicklungsstadium des jungen Thieres spielt. Das Entwicklungsstadium der Kaninchen und Meerschweinchen ist bei der Geburt nicht das gleiche. Die Kaninchen sind bei der Geburt blind, sehr schwach behaart, unbeholfen in ihren Bewegungen und müssen noch zwei Wochen im warmen Neste bleiben. Die Meerschweinchen dagegen werden mit offenen Augen und dichtem, warmem Pelz geboren, sie laufen schon nach wenigen Stunden

[1]) Diese Zeitschr., Bd. 13, S. 399, 1889, u. Bd. 16, S. 173, 1892.

umher und suchen sich selbst ihre Nahrung. Das Gewicht des neugeborenen Kaninchens beträgt nur circa 50 gr., das des neugeborenen Meerschweinchens dagegen circa 100 gr., obgleich das ausgewachsene Meerschweinchen nicht halb so schwer ist wie das ausgewachsene Kaninchen.

Es scheint daher, dass die Meerschweinchen im Uterus ein Entwicklungsstadium durchmachen, welches dem Entwicklungsstadium der neugeborenen Kaninchen entspricht. Wäre die Annahme richtig, dass der Eisenvorrath noch eine andere Bedeutung hat als die geringe Eisenmenge der Milch zu ergänzen, so könnten wir erwarten, dass in der embryonalen Entwicklung der Meerschweinchen ein Stadium anzutreffen sei, wo der Eisenvorrath das Maximum erreicht. Der directe Versuch hat jedoch gezeigt, dass dieses nicht der Fall ist, dass die Meerschweinchen wie die Kaninchen den höchsten Eisenvorrath zur Zeit der Geburt haben.

Meerschweinchen.

	Körpergewicht in Grammen.	Absolute Eisenmenge in einem Embryo in Milligrammen.	Milligramme Eisen auf 100 gr. Körpergewicht.
Embryonen	16,6	0,8	4,6
	32,3	1,4	4,4
	43,6	2,5	5,6
	64,3	3,4	5,3
	94,4	4,7	5,0
Neugeborenes Thier	101,8	5,8[1]	6,0
Kaninchen.			
Embryonen	7,8	0,5	6,4
	15,3	1,3	8,5
	33,5	3,0	9,0
Neugeborenes Thier	59,3	9,5[2]	18,2

[1]) Diese Zahl ist etwas zu niedrig, weil der Darm nicht mit eingeäschert wurde. Vgl. die analytischen Belege in dieser Zeitschrift, Bd. 16, S. 184, 1892.

[2]) Siehe die analytischen Belege in dieser Zeitschr., Bd. 16, S. 183, 1892.

Es sprechen also auch diese Zahlen für die Richtigkeit der in meinen früheren Mittheilungen entwickelten Auffassung von der Bedeutung des Eisenvorrathes beim Neugeborenen.

Analytische Belege.

Den von den Eihäuten befreiten Embryonen wurde dicht am Körper die Nabelschnur unterbunden und durchschnitten. Sie wurden darauf einen Augenblick in destillirtem Wasser abgespült, zwischen Fliesspapier getrocknet und gewogen.

Meerschweinchen.

1. 3 Embryonen wiegen zusammen: 49,88 gr.; daraus 0,0060 $FePO_4$ = 0,0022 Fe. Beim Titriren verbraucht: 2,2 cbcm. Chamäleonlösung (1 cbcm. = 0,0010462 Fe.) = 0,0023 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,0023 Fe = 0,0046 % Fe.

2. 3 Embryonen wogen zusammen: 96,96 gr.; daraus 0,0099 $FePO_4$ = 0,003672 Fe. Beim Titriren verbraucht: 4,6 cbcm. Chamäleonlösung = 0,004813 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,004243 Fe = 0,004376 % Fe.

3. 3 Embryonen wogen zusammen: 130,88 gr.; daraus 0,0192 $FePO_4$ = 0,007121 Fe. Beim Titriren: 7,3 cbcm. Chamäleonlösung = 0,007637 Fe. Mittel: 0,007379 Fe = 0,00564 % Fe.

4. 4 Embryonen wogen zusammen: 257,32 gr.; daraus 0,0367 $FePO_4$ = 0,01361 Fe. Beim Titriren: 13,1 cbcm. Chamäleonlösung = 0,01371 Fe. Mittel: 0,01366 Fe = 0,00531 % Fe.

5. 4 Embryonen wogen zusammen: 377,40 gr.; daraus 0,0518 $FePO_4$ = 0,01921 Fe. Beim Titriren: 17,9 cbcm. Chamäleonlösung = 0,01873 Fe. Mittel: 0,01897 Fe = 0,00503 % Fe.

Kaninchen.

1. 8 Embryonen wogen zusammen: 62,34 gr.; daraus 0,0101 $FePO_4$ = 0,003746 Fe. Beim Titriren verbraucht: 4,1 cbcm. Chamäleonlösung (1 cbcm. = 0,0010462 Fe) = 0,004289 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,004018 Fe = 0,006445 % Fe.

2. 7 Embryonen wogen zusammen: 107,07 gr.; daraus 0,0235 $FePO_4$ = 0,008715 Fe. Beim Titriren: 9,1 cbcm. Chamäleonlösung = 0,00952 Fe. Mittel: 0,00912 Fe = 0,00852 % Fe.

3. Es werden 10 Embryonen im Uterus gefunden. Davon werden 4 zusammen gewogen und eingeäschert. Die 4 Embryonen wiegen zusammen: 133,86 gr.; davon 0,0308 $FePO_4$ = 0,01142 Fe. Beim Titriren: 12,10 cbcm. Chamäleonlösung = 0,01266 Fe. Mittel: 0,01204 Fe. = 0,008994 % Fe.

Vorkommen von Myristinsäure in der Rindergalle.

Von

Lassar-Cohn.

(Mittheilung aus dem Königsberger Institut für medicinische Chemie und Pharmakologie.)

(Der Redaction zugegangen am 25. Mai 1892.)

Stellt man Cholalsäure nach der Mylius'schen[1]), jedenfalls bequemsten aller bisherigen Methoden dar, so extrahirt man bekanntlich die nach vierundzwanzigstündigem Kochen mit Natronlauge und späterem Einleiten von Kohlensäure zur Trockene gedampfte Galle mit Alkohol, verdünnt das Filtrat mit vier Theilen Wasser und setzt nun, so lange die Flüssigkeit dadurch noch gefällt wird, eine Lösung von Bariumchlorid zu. Da cholalsaures Barium im verdünnten Alkohol leicht löslich ist, fallen hierbei nur die Bariumsalze fremder Säuren aus.

Ihre Quantität ist nicht allzu bedeutend. Die im Laufe der Zeit aus 100 Litern Galle erhaltene Menge von ihnen befand sich auf vielen Faltenfiltern zerstreut, und um zu den in denselben vorhandenen Säuren zu kommen, wurden die Filter in einem eisernen Gefäss mit einer Lösung von 400 gr. Natriumcarbonat in sechs Litern Wasser längere Zeit gekocht. Diese Menge Natriumcarbonat genügte sicher zur Ueberführung aller Barium- in Natriumverbindungen.

Nachdem das Magma durch Decantiren in einem hohen Gefäss möglichst ausgewaschen war, ward der Rückstand schliesslich an der Pumpe abgesogen.

Die gesammten Auszüge wurden hierauf auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht und ihr Rückstand mit 90pro-

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 12, Bd. 262.

centigem Alkohol extrahirt. Auf dem Filter hinterbleibt nunmehr der Ueberschuss des Natriumcarbonats.

Die alkoholische Lösung dieser organisch-sauren Natriumsalze erstarrt sehr rasch zu einer so festen Gallerte, dass sie nicht mehr aus dem betreffenden Gefässe ausgegossen werden kann. Nachdem der Alkohol auf dem Wasserbade verjagt war, wurde ein aliquoter Theil des Rückstandes bei 120° getrocknet, dessen Trockengehalt sich zu 69,8 °/₀ ergab. Daraus berechnete sich weiter, dass aus den hundert Litern Galle 480 gr. von diesem rohen Natriumsalz, entsprechend 0,48 °/₀, erhalten waren.

Eine ausführliche Untersuchung dieser Salze muss zur Kenntniss aller in der Galle nach deren Kochen mit Natronlauge vorhandenen Säuren führen, wenn sich zeigen lässt, dass nach Entfernung der «fremden» Bariumsalze in der ursprünglichen Lösung nur noch cholalsaures Salz vorhanden ist.

Zur Untersuchung der Salze schien sich als einzig brauchbare Methode die fractionirte Fällung darzubieten, und von dem bisher auf diesem Wege Erreichten soll im Folgenden Mittheilung gemacht werden.

Um nicht zu unhandlichen Mengen an Lösung zu kommen, wurden jene 480 gr. Natriumsalze nur zu drei Litern Flüssigkeit gelöst und sollten nun heiss mit je 20 gr. einer 10procentigen Lösung von Bariumacetat ausgefällt werden.

Fällung I und II fielen reichlich aus, Fällung III ergab sehr wenig Bariumsalz. Eine vierte Fällung konnte nur mittelst 40 gr. Bariumacetat erhalten werden. Eine sehr geringe fünfte Portion wurde mittelst weiterer 60 gr. abgeschieden, und dann nochmals 100 gr. (immer als 10procentige Lösung) zugesetzt, was zu einer sechsten ebenfalls wenig belangreichen Abscheidung führte. Der bei Weitem grösste Theil der «fremden Säuren» erwies sich als auf diesem Wege überhaupt nicht fällbar, woraus folgt, dass sich die Bariumsalze in dieser rein wässerigen Lösung ganz anders verhalten, als in jener ursprünglichen, aus der sie gewonnen waren, welche 20 °/₀ Alkohol enthalten hatte.

Untersuchung der Fällungen.

Fällung I. Das Bariumsalz wurde in viel heissem Wasser aufgeschwemmt und durch Salzsäurezusatz die in ihm enthaltene Säuremenge in Freiheit gesetzt. Sie schwamm ölig obenauf, erstarrte bald beim Abkühlen und wurde alsdann unter Thierkohlezusatz aus 70procentigem Alkohol umkrystallisirt. Die erste Krystallisation war noch hellbraun, die weiteren waren schneeweiss. Die Schmelzpunkte ergaben: 2. Krystallisation 55,8°, 3. Krystallisation 56,0°, 4. Krystallisation 56,6° [1]). Der Mutterlaugenrückstand dieser vierten Krystallisation schmolz bei 52,3°.

Dass ein Gemisch von Fettsäuren vorlag, ist offenbar, und zu deren Trennung konnte nur ein erneutes fractionirtes Fällen führen.

Das Gemenge wog nach dem viermaligen Umkrystallisiren noch 28 gr. Es wurde, wie das schon Chevreul empfohlen hat, in Alkohol gelöst, dann etwas Ammoniak zugegeben, und nunmehr mit essigsaurem Magnesium versetzt. Dieses kam als 10procentige alkoholische Lösung zur Verwendung, und zwar jedesmal in einer Menge von 20 cbcm. Die in der Wärme klar bleibende Lösung lässt beim Erkalten dann die Magnesiumsalze ausfallen, und je nach der ihr hierzu gelassenen Zeit schwankt deren Menge. Die Magnesiumverbindungen wurden in Wasser wieder aufgeschwemmt, durch Zugabe von Salzsäure zerlegt, und die so wieder abgeschiedene Säure nach oberflächlichem Trocknen auf Fliesspapier gewogen. Alsdann wurden die Portionen aus 70 % Alkohol, und etwas von den erhaltenen Krystallen nochmals aus 90 % Alkohol umkrystallisirt, damit der Mutterlaugenrückstand eine zur Schmelzpunktsbestimmung genügende Menge als Verdampfungsrückstand hinterliess.

---

[1]) Alle Schmelzpunktsbestimmungen wurden mit einem gewöhnlichen Thermometer ausgeführt, von dem durch Vergleich mit einem Geissler'schen Normalthermometer festgestellt war, dass es zwischen 40 und 60° 0,8° zu niedrig zeigte.

	Gewicht.	Schmelzpunkt nach dem Umkrystallisiren.	Schmelzpunkt nach nochmaliger Krystallisation.	Schmelzpunkt des Mutterlaugenrückstandes.
Fraction I . .	1,6 gr.	61,0	62,0	57,1 [1])
» II . .	5,2 »	61,2	62,0	53,5
» III . .	7,4 »	60,1	60,6	52,0
» IV . .	3,8 »	58,9	59,4	56,3
» V . .	10,2 »	69,2	69,3	69,9

Aus diesen Daten folgt, dass wir es mit Palmitin- und Stearinsäure zu thun haben.

Die Mutterlauge, die nach dem Abfiltriren von Fraction V hinterblieb, wurde auf etwa ein Fünftel eingedampft, und schied nach dem Erkalten ein Salz aus, aus dem ebenfalls die Säure frei gemacht wurde.

	Gewicht.	Schmelzpunkt nach dem Umkrystallisiren.	Schmelzpunkt nach nochmaliger Krystallisation.	Schmelzpunkt des Mutterlaugenrückstandes.
Fraction (?) VI .	1,5 gr.	54,0	54,1	49,3

Dieser Schmelzpunkt ist der niedrigste, den überhaupt Gemische von Stearin- und Palmitinsäure zeigen können. Nach dem, was wir gleich bei dem Verhalten der Fällung II sehen werden, ist es aber viel wahrscheinlicher, dass in dieser Fraction schon etwas von einer niedriger schmelzenden Säure vorhanden ist (siehe weiterhin Seite 76).

Fällung II wurde ganz in derselben Art wie I behandelt. Die ölig erhaltene Säure wurde unter Thierkohlezusatz umkrystallisirt. Von der ersten bräunlichen Krystallisation wurde auch hier der Schmelzpunkt nicht bestimmt. Die zweite Krystallisation zeigte einen solchen von 54,2°, die dritte wiederum 54,2°, die vierte 54,3°. Deren Mutterlaugenrückstand schmolz bei 53,5°. Die ausserordentliche Gleichmässigkeit dieser Schmelzpunkte hätte, wo es sich nicht um Fettsäuren handelt,

[1]) Siehe Heintz, Poggendorff's Annalen, Bd. 168, S. 582.

gewiss die Meinung, dass man es mit einer einheitlichen Substanz zu thun habe, aufkommen lassen. Hier konnte das nur durch erneutes fractionirtes Fällen entschieden werden. Die für diesen Zweck zu Gebote stehende Säuremenge wog 16 gr.

	Gewicht.	Schmelzpunkt nach dem Umkrystallisiren.	Schmelzpunkt nach nochmaliger Krystallisation.	Schmelzpunkt des Mutterlaugenrückstandes.
Fraction I . .	2,2 gr.	54,2	56,8	54,0
» II . .	3,4 »	55,1	56,0	55,8
» III . .	1,9 »	55,1	56,3	54,0
» IV . .	2,5 »	55.5	56,1	55,2
» V . .	4,1 »	52,8	53,6	54,0
» VI . .	2,3 »	58,5	60,3	60,0

Wie man sieht, sind diese Schmelzpunkte ausserordentlich viel niedriger als die der aus Fällung I erhaltenen Säuren, ja der Schmelzpunkt der Fraction V liegt geradezu tiefer, als überhaupt Gemische von Palmitinsäure und Stearinsäure schmelzen können.

Leider sind die einzelnen Fractionen zu gering, als dass deren nochmalige Fractionirung sich in sicherer Weise ausführen liesse. Analysen vermögen wenig zu entscheiden. Es wurde z. B. ein Magnesiumsalz aus Fraction V dargestellt und dessen Metallgehalt zu 5,00 statt 5,02% gefunden, welches Letztere die sich für myristinsaures Magnesium berechnende Zahl ist.

Die Myristinsäure steht bekanntlich im gleichen Verhältniss zur Palmitin- wie diese zur Stearinsäure:

Myristinsäure	$C_{14}H_{28}O_2$	Schmelzpunkt	53,8°,
Palmitinsäure	$C_{16}H_{32}O_2$	»	62,0°,
Stearinsäure	$C_{18}H_{36}O_2$	»	69,2°.

Ein Versuch, die Säure in ihr Amid durch Erhitzen im Einschlussrohr mit starkem Ammoniak überzuführen, um sie auf diese Weise zu identificiren[1]), führte durch Zerspringen des Rohres zum Materialverlust.

[1]) Berichte der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 18, S. 2016.

Hierauf wurden die Fractionen, abgesehen von der letzten, in Alkohol gelöst und durch Einleiten salzsauren Salzes verestert, und wurden so etwa 5 gr. Ester erhalten. Die Ester der genannten Säuren lassen sich bekanntlich bei gewöhnlichem Luftdruck unzersetzt destilliren, der der Myristinsäure siedet bei 295° und schmilzt bei 11°[1]).

Bei der ersten Destillation, die in einer kleinen Retorte aus dem Metallbade vorgenommen wurde, stieg das Thermometer sehr bald über 360°, bei der Wiederholung nicht mehr ganz so hoch, und eine dritte Destillation führte dann zu einer Fraction vom Siedepunkte 290—300°, einer weiteren von 300—315° und einer dritten von 315—350°. Alle drei erstarrten in kaltem Wasser, I schmolz hierauf bei 16°, II bei 20,3° und III bei 20,8°.

Nun schmilzt Palmitinsäureester bei 24,2° (Stearinsäureester bei 32,9°). Auch diese Destillate weisen also darauf hin, dass man es mit einem Ausgangsmaterial zu thun hat, welches niedriger als Palmitinsäure schmilzt.

Die einzelnen Fractionen waren zur gesonderten Weiterverarbeitung zu gering, sie wurden daher zusammen durch alkoholisches Kaliumhydroxyd verseift, und so die Säuren aus den Destillaten wiedergewonnen. Die Menge betrug jetzt 2 gr. Nach dem Lösen in 96procentigem Alkohol und Zugabe von etwas Ammoniak wurden mit je 1 cbcm. einer 10procentigen Lösung von Magnesiumacetat fractionirte Fällungen ausgeführt. Das Ergebniss war das folgende:

	Schmelzpunkt der umkrystallisirten Säure.	Schmelzpunkt des Mutterlaugenrückstandes.	Schmelzpunkt nach nochmaliger Krystallisation.
Fraction I	51,8	49,7	53,4
» II	53,0	52,4	53,4
» III	53,4	53,0	53,7
» IV	59,2	—	—

Dass hier Myristinsäure vorliegt, kann nach dem Schmelzpunkt der verschiedenen Fractionen keinem Zweifel unterliegen.

[1]) Berichte der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 19, S. 1434.

Es war nur auffallend, dass von ihr so ausserordentlich wenig vorhanden sein sollte, dass ihr Nachweis sich kaum erbringen liess.

Nun war die Rohsäure, welche aus dem Bariumsalz der Fraction II des ursprünglichen Rohmaterials erhalten war, wie aus dem Vorhergehenden ersichtlich, 4mal umkrystallisirt, bis eine Säure erhalten wurde, aus der durch fractionirte Fällung dann sehr geringe Partien erhalten wurden, die sich als Myristinsäure erwiesen; konnte es da nicht möglich sein, dass ein grösserer Theil von dieser in den 4 Mutterlaugen stecken geblieben war? Diese wurden deshalb zusammen zur Trockne gedampft, in 96 procentigem Alkohol gelöst und nach längerem Kochen mit Thierkohle ergab die Filtration eine schwach hellgelb gefärbte Lösung.

Auch diese wurde mit Ammoniak versetzt und fractionirt mit je 10 cbcm. Magnesiumacetat gefällt.

Zwei Fractionen konnten erhalten werden, dann fiel auf erneuten Magnesiumzusatz nichts mehr aus, erst nach dem Eindampfen auf etwa den fünften Theil des Volumens schied sich im Laufe der Zeit wieder ein weiteres Quantum Magnesiumsalz aus.

Die aus Fraction I wieder abgeschiedene Säure schmolz nach dem Umkrystallisiren bei 53,7° (Mutterlaugenrückstand bei 49,8°), bei Wiederholung des Verfahrens bei 54,0° (Mutterlaugenrückstand bei 51,5°) und dann bei 54,1° (Mutterlaugenrückstand bei 53,8°). Diesen Bestimmungen zufolge liegt sicher Myristinsäure vor. Die geringe noch vorhandene Menge an Säure wurde in's Bleisalz verwandelt und dieses analysirt:

0,3031 gr. Substanz lieferten 0,1400 $PbSO_4$, entsprechend 0,0958 Pb.

	Berechnet für myristinsaures Blei $Pb(C_{14}H_{27}O_2)_2$:	Gefunden:
Pb	31,31 %	31,54 %.

Jene geringe Menge Säure, welche bei Wiederzerlegung des zweiten Magnesiumsalzes erhalten wurde, zeigte beim wiederholten Umkrystallisiren die Schmelzpunkte 53,7° — 53,8° — 53,8°.

Nach Beendigung der Arbeit erhielt ich von Herrn Prof. Lossen etwas Myristinsäure, die er von Heintz, der sie vor fast 40 Jahren aus Wallrath gewonnen, erhalten hatte. Durch dieses freundliche Entgegenkommen war eine Vergleichung der meinigen mit dieser ermöglicht. Heintz' Säure schmolz bei 54,4° und unterschied sich nach dem Umkrystallisiren aus 70procentigem Alkohol in nichts von der aus Galle gewonnenen.

Die Zerlegung des aus der eingedampften Mutterlauge erhaltenen Magnesiumsalzes führte zu einer Säure, die beim wiederholten Umkrystallisiren bei 57,2°—57,8°—61,1° schmolz. Substanzmangel verhinderte die weitere Reinigung, doch kann kein Zweifel sein, dass es sich hier um Palmitinsäure handelte.

Zerlegung des dritten Bariumsalzes.

Es wurde nunmehr zur fractionirten Fällung des aus dem Rohmaterial erhaltenen dritten Bariumsalzes übergegangen.

Die Zerlegung des Materials mittelst Salzsäure führte zu einer Säure, die einmal umkrystallisirt noch gefärbt erschien. Die weiteren rein weissen Krystallisationen zeigten nach einander die Schmelzpunkte 58,3° — 58,5° — 58,0°. Der Rückstand der Mutterlauge der letzten Krystallisation schmolz bei 57,7°.

Das Gewicht der so erhaltenen Säure betrug 0,7 gr. Durch Zerlegen mittelst je 1 cbcm. Magnesiumacetatlösung in der schon erwähnten Art wurden zwei Fractionen erhalten, aus den die Säuren wieder in Freiheit gesetzt wurden.

Die Krystallisationen von Fraction I gaben nach einander die Schmelzpunkte 54,0° — 54,2° — 54,2°. Der Mutterlaugenrückstand der letzten schmolz bei 53,7°. Bei Fraction II wurden die Zahlen 58,5° — 59,5° — 60,2° — 60,9° — 61,1° erhalten.

Auch dieses dritte Bariumsalz war also ein Gemisch von myristinsaurem und palmitinsaurem Barium gewesen.

Das vierte Bariumsalz aus dem Rohmaterial war, wie erwähnt, mit Hilfe von 40 gr. Bariumacetat erhalten worden.

Die aus ihm abgeschiedene Säure zeigt den Schmelzpunkt 57,0°, dann 57,8°. Der Mutterlaugenrückstand schmolz bei 55,2°.

Durch fractionirte Fällung wurden zwei Portionen erhalten, die die Schmelzpunkte 55,4° — 57,0° — 58,6° — 60,4° und 56,2° — 57,2° — 59,4° — 61,1° zeigten. Zur weiteren Krystallisation reichte das Material nicht, aber aus dem gleichmässigen Ansteigen des Schmelzpunktes folgt, dass das Bariumsalz hauptsächlich aus palmitinsaurem Salz bestanden hat.

Die aus dem fünften Bariumsalz erhaltene Säure war nicht mehr ordentlich zum Krystallisiren zu bringen. Aus dem sechsten schied sich beim Stehen erst eine wohlausgebildete Säure in harten Einzelkrystallen aus — wohl Choleïnsäure, wie später gezeigt werden soll —, und die von dieser abgegossene Mutterlauge hinterliess ein Oel.

Hiernach schien es am richtigsten, die beiden Portionen zusammen zu verarbeiten, um aus ihnen etwa vorhandene Oelsäure zu gewinnen. Zu dem Zwecke wurden die Säuren in Alkohol gelöst und die Lösung mit alkoholischem Bleiacetat gefällt. Der getrocknete Niederschlag gab bei der Extraction mit Aether an dieses ein in ihm lösliches Bleisalz ab, welches in jeder Weise das Verhalten von ölsaurem Blei zeigte.

Nach dem Mitgetheilten kann es keinem Zweifel unterliegen, dass sich in der Rindergalle Myristinsäure findet. Leider schien es nicht gelingen zu sollen, die geringe Menge, welche schliesslich eine Elementaranalyse erfordert, in die Hand zu bekommen, deren Ausführung, wenn auch nicht unbedingt erforderlich, doch sehr wünschenswerth scheint.

Bei der Zusammenstellung der Arbeit für den Druck fiel mir dann der so sehr niedrige Schmelzpunkt auf, den die Säure aus der Mutterlauge bei der fractionirten Trennung der aus dem Bariumsalz I erhaltenen Magnesiumsalze ergeben hatte (siehe dort). Seiner Zeit hatte ich ihn, da ich an das Vorhandensein von Myristinsäure noch nicht dachte, nicht weiter beachtet.

Als ich mich nunmehr von Neuem mit dieser Portion beschäftigte, fand ich, dass sie nach nochmaliger Krystallisation bei 53,8° schmolz und in ihr bereits reine Myristinsäure vorlag, was denn auch die Elementaranalyse bestätigte:

0,1780 gr. Substanz gaben 0,4802 gr. CO_2 und 0,1985 H_2O.

		Berechnet für $C_{14}H_{28}O_2$:	Gefunden:
C	=	73,69	73,54,
H	=	12,28	12,39.

Bei einer Wiederholung der Versuche zur Gewinnung der Myristinsäure aus der Galle aus den in der erwähnten Art als Nebenproduct erhaltenen Bariumsalzen würde man jetzt, da ihr Vorkommen bekannt, etwa so verfahren, dass man die rohen Natriumsalze — siehe den Beginn der Arbeit — mit viel essigsaurem Barium ganz ausfällen würde und aus dem so erhaltenen Niederschlag die gesammten in ihm enthaltenen Fettsäuren mittelst Salzsäure wieder in Freiheit setzte. Auf die Art würde man die Gesammtmenge der vorhandenen Myristinsäure, indem man diese Fettsäuren mit essigsaurem Magnesium fractionirt fällt, nachdem die Stearinsäure völlig, die Palmitinsäure fast ganz ausgefällt ist, in wenigen Fractionen, theils noch mit etwas Palmitinsäure vermischt, theils ganz rein sogleich aus dem Rohsalz gewinnen. Ihre Menge ist, wohl eher zu hoch als zu niedrig, auf 0,004 % vom Gewicht der Galle zu schätzen, indem im Ganzen in den verschiedenen Fractionen etwa 4 gr. von ihr vorhanden gewesen sein werden, und zwar höchst ungünstig auf diese vertheilt, da sie ohne Kenntniss ihres Vorhandenseins und aus viel zu concentrirter Lösung ausgefällt worden waren.

Die Untersuchung der bei der Darstellung von Cholalsäure aus Galle als Nebenproduct erhaltenen Bariumsalze hat also bisher das Vorhandensein von Stearin-, Palmitin-, Myristin- und Oelsäure ergeben. Ausserdem ist aus ihnen, wie schon erwähnt, noch sehr reichlich, in weit grösserer Menge als diese Fettsäuren, Choleïnsäure und vielleicht noch eine weitere krystallisirte Verbindung gewinnbar, worüber später berichtet werden soll. Myristinsäure ist bisher in

8 verschiedenen Pflanzenarten[1]) und im Wallrath[2]) aufgefunden worden, dagegen war ihr Vorkommen sonst im thierischen Körper nicht bekannt. Da sie der Galle als solcher nicht entstammen kann, fragt sich, von wo aus sie in diese gelangt. Die Untersuchung, ob Myristinsäure vielleicht in Spuren — um mehr kann es sich kaum handeln — im gewöhnlichen Fett vorhanden ist, ist trotz der geringen Aussicht auf Erfolg bereits begonnen worden.

---

[1]) Berichte der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 19, S. 1434, und Bd. 22, S. 1743.

[2]) Poggendorff's Annalen, Bd. 168, S. 440.

Ueber den Eisengehalt der Leber.

Von

G. Bunge.

(Der Redaction zugegangen am 28. Mai 1892.)

In einer früheren Mittheilung habe ich die Vermuthung ausgesprochen, dass im Organismus weiblicher Säugethiere schon vor der Conception ein Eisenvorrath aufgespeichert werde, um später der Frucht als Nahrung zu dienen[1]). Es kam nun darauf an, die Richtigkeit dieser Vermuthung zu prüfen und den Eisengehalt der verschiedenen Organe bei weiblichen und männlichen Individuen in verschiedenen Entwicklungsstadien zu vergleichen. Ich habe zunächst an der Leber solche vergleichende Bestimmungen ausgeführt. Dieselben haben noch kein entschiedenes Resultat ergeben. Dennoch erscheint es mir nicht nutzlos, die bisher gefundenen Zahlen zu veröffentlichen, weil ich glaube, dass mir die Entblutung der Lebern weit vollständiger gelungen ist als meinen Vorgängern. Die Bestimmung des Eisens in der Leber hat keinen Zweck, so lange das Blut nicht vollständig aus derselben entfernt ist, weil der Eisengehalt der Leber ein geringer ist und das Eisen der kleinsten Menge zurückgebliebenen Blutes dagegen sehr wohl in Betracht kommt. An der ausgeschnittenen Leber gelingt die Entblutung niemals vollständig. Die Ausspülung der Blutgefässe muss am lebenden Thiere ausgeführt werden. Es genügt dazu in die Pfortader Kochsalzlösung einzuleiten. Beim Versuch, gleichzeitig in die Pfortader und in die Leberarterie die Lösung einströmen zu lassen, ist mir die Entblutung niemals so vollständig gelungen, weil die

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 13, S 403, 1889.

Operation zu lange dauert und leicht Gerinnung in einzelnen Gefässbezirken der Leber eintritt. Es scheint, dass beim Einleiten in die Pfortader und darauf folgender Durchschneidung der Leberarterie die Kochsalzlösung von den Capillaren aus in umgekehrter Richtung in die Arterien eindringt oder dass die absterbenden Arterien sich contrahiren und ihren Inhalt in die Capillaren treiben, wo derselbe vom Kochsalzstrom fortgespült wird. Thatsächlich liess sich in den so durchspülten Lebern kein Hämoglobin mehr nachweisen.

Das Verfahren war also folgendes. Es wird den Hunden und Katzen in tiefster Narkose — Morphium subcutan und darauf Chloroform — die Bauchhöhle geöffnet, eine Canüle in die Pfortader eingebunden und sofort ein Strom auf Körpertemperatur erwärmter 1 procentiger Kochsalzlösung unter schwachem Drucke eingeleitet. Sobald die Kochsalzlösung einzuströmen beginnt, wird die Leberarterie und die Vena cava durchschnitten und die Bauchhöhle geschlossen, nach einer Minute wieder geöffnet, die Leber herauspräparirt, ohne Unterbrechung des Kochsalzstromes in eine Porcellanschale gelegt und das Durchleiten fortgesetzt. Die Porcellanschalen werden gewechselt, bis ganz reine Kochsalzlösung aus den Lebervenen herausfliesst. Das Durchspülen dauert nur wenige Minuten und es ist damit der Einwand beseitigt, dass die Kochsalzlösung dem Lebergewebe irgend welche Bestandtheile entziehen könnte[1]). Die Gallenblase wird abpräparirt, die Leber durch Abpressen zwischen Fliesspapier von der Kochsalzlösung befreit, gewogen und in eine Platinschale gebracht. Die Entblutung wurde nur in den Fällen als gelungen betrachtet und die Eisenbestimmung vorgenommen, wo die Oberfläche der Leber gleichmässig hellbraun gefärbt war und keine rothen Flecke zeigte. Eine weitere Probe bestand darin, dass die mit einem Platinspatel zerstückelte Leber, mit destillirtem Wasser übergossen und umgerührt, das Wasser nicht im geringsten färbte.

Von einer sehr grossen Zahl in dieser Weise ausgeführter Bestimmungen stelle ich in folgender Tabelle nur die Ergebnisse

---

[1]) Vgl. Zaleski, diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 460 u. 461, 1886.

derjenigen zusammen, bei welchen die Lebern wirklich vollkommen blutfrei waren.

Die procentischen Eisenzahlen für die blutfreien Lebern sind in sofern nicht ganz genau und unter einander vergleichbar, als die in den gewogenen Lebern zurückgebliebene Menge der Kochsalzlösung nicht die gleiche sein konnte. Aus demselben Grunde habe ich es auch unterlassen, die Trockensubstanz zu bestimmen. Auch hierbei würde Kochsalz mitgewogen werden. Es scheint mir, dass man am besten unter einander vergleichbare Werthe erhält, wenn man das Verhältniss der in den blutfreien Lebern enthaltenen Eisenmengen zum Körpergewicht vergleicht. Ich habe deshalb in einer Rubrik der folgenden Tabelle die Eisenmengen der blutfreien Lebern, auf 10 Kilogr. Körpergewicht berechnet, zusammengestellt.

	Körpergewicht in gr.	Gewicht der blutfreien Leber in gr.	Absolute Eisenmenge in der blutfreien Leber in Milligr. Fe.	Milligr. Fe auf 100 gr. der blutfreien Leber.	Milligr. Fe in der blutfreien Leber auf 10 Kilogr. Körpergewicht berechnet.
1. Kater . .	1430	39,60	3,4	8,7	24,0
2. Kater . .	2300	78,22	0,8	1,0	3,4
3. Kater . .	3005	81,70	2,1	2,5	6,9
4. Katze . .	1230	39,55	1,0	2,6	8,5
5. Katze . .	1335	50,60	2,4	4,7	18,0
6. Katze . .	2265	66,70	3,1	4,7	13,8
7. Katze . .	2760	62,20	22,1	35,5	80,1
8. Katze . .	2925	63,20	3,3	5,2	11,3
9. Hund . .	7800	178,00	12,5	7,0	16,0
10. Hündin .	4290	123,80	7,9	6,4	18,5

Auf dieser Tabelle springt sofort der hohe Eisengehalt in der Leber der jungen, aber nahezu ausgewachsenen Katze No. 7 in die Augen. Vergleicht man denselben mit demjenigen der nächstkleineren und jedenfalls jüngeren Katze No. 6, so scheint es, dass beim Uebergang aus dem einen Entwicklungsstadium in das andere nahezu 20 Milligr. Eisen in der Leber aufgespeichert werden. Diese Menge ist sehr bedeutend, und es ist vielleicht nicht immer möglich, dieselbe in der kurzen

Zeit, welche der geringen Körpergewichtszunahme entspricht, aus der Nahrung zu assimiliren. Wird das Eisen dem Blute entnommen, so ist für dieses der Verlust sehr erheblich. Die Katze No. 7 konnte nur circa 200 gr. Blut enthalten und darin nur etwa 80 Milligr. Eisen. Es würde also $^1/_4$ von dem Eisen des Blutes in diesem Entwicklungsstadium der jungen Katze in kurzer Zeit in die Leber wandern. Diese Thatsache scheint im Einklange zu stehen mit der Vermuthung, welche ich über die Entstehung der Chlorose in meiner früheren Mittheilung ausgesprochen habe[1]). Indessen möchte ich vorläufig auf diesen isolirten Befund kein grosses Gewicht legen und die Versuche fortsetzen. Es wird eine sehr grosse Zahl von Bestimmungen erforderlich sein, um die Abhängigkeit des Eisengehaltes in der Leber von dem Entwicklungsstadium der männlichen und weiblichen Thiere und von den Geschlechtsfunctionen festzustellen.

Es bleibt ferner zu untersuchen übrig, ob nicht auch in anderen Geweben und Organen bei den Weibchen der Eisengehalt in gewissen Entwicklungsstadien höher ist als bei den Männchen. Insbesondere wären die Muskeln, die Milz, die Lymphdrüsen, das Knochenmark darauf zu untersuchen. — Auf eine Entblutung dieser Organe am lebenden Thiere glaube ich verzichten zu müssen. Es scheint mir zweckmässiger, an den ausgeschnittenen Organen die Trennung des Hämoglobin von den übrigen Eisenverbindungen auf rein chemischem Wege vorzunehmen. Da das Hämoglobin in kaltem Wasser löslich, die übrigen organischen Eisenverbindungen der Gewebe dagegen unlöslich sind, so ist eine solche Trennung sehr wohl ausführbar. Mit Untersuchungen in dieser Richtung bin ich beschäftigt.

Analytische Belege.

1. Junger Kater. 1430 gr. schwer. Gewicht der blutfreien Leber: 39,60 gr. Darin 0,0084 $FePO_4$ = 0,003115 Fe. Beim Titriren verbraucht: 3,50 cbcm. Chamäleonlös. (1 cbcm. = 0,0010674 Fe) = 0,003736 Fe. Mittel aus beiden Bestimmungen: 0,003426 Fe = 0,008651 % Fe.

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 403, 1889.

2. Junger Kater. 2300 gr. schwer. Blutfreie Leber: 78,22 gr. Darin 0,0015 $FePO_4$ = 0,00056 Fe. Beim Titriren: 0,95 cbcm. Chamäleonlös. = 0,00101 Fe. Mittel: 0,000785 Fe = 0,0010 % Fe.

3. Kater. 3005 gr. schwer. Blutfreie Leber: 81,7 cbcm. Darin 0,0056 $FePO_4$ = 0,002077 Fe. Beim Titriren: 1,95 cbcm. Chamäleonlös. = 0,002081 Fe. Mittel: 0,002079 Fe = 0,00254 % Fe.

4. Junge Katze. 1230 gr. schwer. Gewicht der blutfreien Leber: 39,55 gr. Darin 0,0026 $FePO_4$ = 0,000964 Fe. Beim Tritriren: 1,05 cbcm. Chamäleonlös. = 0,00112 Fe. Mittel: 0,00104 Fe = 0,002634 % Fe.

5. Junge Katze. 1335 gr. schwer. Blutfreie Leber: 50,60 gr. Darin 0,0062 $FePO_4$ = 0,002299 Fe. Beim Titriren: 2,35 cbcm. Chamäleonlös. = 0,002508 Fe. Mittel: 0,002404 Fe = 0,004751 % Fe.

6. Junge Katze. 2265 gr. schwer. Blutfreie Leber: 66,70 gr. Darin 0,0085 $FePO_4$ = 0,003152 Fe. Beim Titriren: 2,90 cbcm. Chamäleonlös. = 0,003095 Fe. Mittel: 0,003124 Fe = 0,004684 % Fe.

7. Junge Katze. 2760 gr. schwer. Blutfreie Leber: 62,2 gr. Darin 0,0592 $FePO_4$ = 0,021955 Fe. Beim Titriren: 20,85 cbcm. Chamäleonlös. = 0,02226 Fe. Mittel: 0,02201 Fe = 0,0355 % Fe.

8. Katze. 2925 gr. schwer. Blutfreie Leber: 63,2. Darin 0,0094 $FePO_4$ = 0,003486 Fe. Beim Titriren: 2,90 cbcm. Chamäleonlösung = 0,003095 Fe. Mittel: 0,003291 Fe = 0,005207 % Fe.

9. Hund. 7800 gr. schwer. Blutfreie Leber: 178,0 gr. Darin 0,0352 $FePO_4$ = 0,01305 Fe. Beim Titririen: 10,10 cbcm. Chamäleonlös. = 0,01185 Fe. Mittel: 0,01245 Fe = 0,00699 % Fe.

10. Hündin. 4290 gr. schwer. Blutfreie Leber: 123,8. Darin 0,0213 $FePO_4$ = 0,007899 Fe. Beim Titriren: 7,45 cbcm. Chamäleonlös. = 0,007952 Fe. Mittel: 0,007926 Fe = 0,006402 % Fe.

Ueber eine Reaction zum Nachweis von Zucker im Urin, auf Indigobildung beruhend.

Von

G. Hoppe-Seyler, Privatdocent in Kiel.

(Aus der medicinischen Klinik des Herrn Professor Quincke in Kiel.)

(Der Redaction zugegangen am 29. Mai 1892.)

Nach den Untersuchungen von A. Baeyer[1]) über die künstliche Bildung des Indigos entsteht aus o-Nitrophenylpropiolsäure beim Kochen mit Alkalien und reducirenden Substanzen, wie Traubenzucker, Indigo.

Im Anschluss an meine Arbeit[2]) über die Umsetzung dieser Säure im Organismus in Indoxylverbindungen habe ich diese Reaction auch manchmal zum Nachweis reducirender Körper angewendet. So gibt der Urin auch unter normalen Verhältnissen beim Kochen mit o-Nitrophenylpropiolsäure, unter Zusatz von Natronlauge oder kohlensaurem Natrium, bis zur stark alkalischen Reaction geringe Mengen von Indigo, wenn nicht zu wenig Urin verwendet wird. Besonders stark tritt aber die Ausscheidung des Indigos ein bei Diabetes-Urin.

In letzter Zeit habe ich nun eine Anwendungsweise dieser Reaction für diesen Zweck gefunden, welche vielleicht von praktischem Werth sein dürfte.

Ich habe zunächst eine halbprocentige Lösung der Säure in Natronlauge gemacht und gefunden, dass dieselbe gut haltbar ist. Die rothbraune Flüssigkeit zeigt, nachdem sie nun vier Monate gestanden hat, unverändert dieselben Eigenschaften, wie gleich nach der Bereitung.

---

[1]) Ber. der deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 13, S. 2260.

[2]) Diese Zeitschr., Bd. 7, S. 403.

Es wurde so viel Natronlauge verwendet, dass die Säure sich ganz gelöst hatte (für 5,76 gr. 100 cbcm. Natronlauge von 10%), dann mit Wasser aufgefüllt.

Von zahlreichen Versuchen will ich nachstehend einige anführen. Zunächst prüfte ich das Reagens mit Traubenzuckerlösung:

5 cbcm. Reagens mit 0,4 cbcm. 1% Zuckerlösung gekocht, gab dunkelblaue Färbung;

10 cbcm. Reagens mit 0,5 cbcm 1% Zuckerlösung gekocht, gab dunkelblaue Färbung;

5 cbcm. Reagens mit 1,6 cbcm. $^1/_4$% Zuckerlösung gekocht, gab dunkelblaue Färbung.

Dann wandte ich Diabetes-Urin von 3,7% Zuckergehalt an, den ich auf das 10fache verdünnte = 0,37%. Davon gaben:

0,5	cbcm. mit	5	cbcm.	Reagens geringe	Indigobildung.
0,8	» »	5	»	» stärkere	»
1,0	» »	5	»	» starke	»

Von demselben Urin, zu einer 1% Zuckerlösung verdünnt, gab:

0,5 cbcm. mit 5 cbcm. Reagens starke Blaufärbung.

Ein anderer Diabetes-Urin wurde verdünnt zu 1% Zuckerlösung. Schon 5 Tropfen der Verdünnung ergaben mit 5 cbcm. Reagens starke Blaufärbung, auch bei Verdünnung auf 0,5% gaben 5 Tropfen noch deutliche Blaufärbung beim Kochen.

Dagegen zeigten zahlreiche Urinproben von Leuten, welche an den verschiedensten Erkrankungen litten, oder sich normal verhielten, auch wenn dieselben ziemlich concentrirt waren, bei Zusatz von 10 Tropfen zu 5 cbcm. Reagens keine deutliche Farbenänderung.

Nun untersuchte ich, ob der Eiweissgehalt des Urins die Reaction beeinträchtigt.

Ein nur geringe Mengen von Eiweiss und Blut, aber keinen Zucker enthaltender Urin gab:

bei 1,0	cbcm. zu	5	cbcm.	Reagens grünliche	Färbung.
» 0,5	» »	5	»	» keine	»

Ein sehr eiweissreicher Urin mit Diabetes-Urin von 4% Zuckergehalt und Wasser verdünnt, so dass 25 cbcm. des Eiweissurins, 5 cbcm. des Diabetes-Urins und 10 cbcm. Wasser eine Zuckerlösung von 0,5% mit einem Gehalt von 1,5% Eiweiss darstellten, ergab bei Anwendung von 0,5 cbcm. zu 5 cbcm. Reagens dunkelblaue Färbung.

Eine Mischung von 15 cbcm. des Eiweissurins mit 5 cbcm. des Diabetes-Urins, also eine Lösung von 1,8% Eiweiss und 1% Zucker ergab:

bei 0,3 cbcm. zu 5 cbcm. Reagens dunkelblaue Färbung.

Die Trommer'sche Probe liess sich bei den erwähnten eiweisshaltigen Zuckerlösungen ohne vorhergehende Enteiweissung nicht anstellen, während die Indigoreaction nicht gestört wurde.

Nur wenn über 2% Eiweiss im Urin vorhanden sind, was ja nur selten vorkommt, so gibt die Reaction eine dunkelrothe Färbung. Sonst ist die Reaction aber direct mit dem Eiweissurin ausführbar. Man könnte nun einwenden, dass durch Zucker in alkalischer Lösung der Indigo weiter reducirt und die Lösung wieder entfärbt würde. Dies tritt nur ein, wenn ein grosser Ueberschuss des Urins genommen wird. Die bei Anwendung mehrerer Cubikcentimeter zuckerhaltiger Urine erhaltene rothe Flüssigkeit bedeckt sich übrigens auch dann beim Schütteln mit dunkelblauem Schaum.

Zur Titration ist die Reaction nicht brauchbar. Dagegen gibt die Stärke der Färbung bei Anwendung gleicher Mengen ein Mass, ob viel oder wenig Zucker vorhanden ist.

In der Praxis wäre die Reaction wohl am besten so anzuwenden:

5 cbcm. = 1 Theelöffel des Reagens (½% Lösung von o-Nitrophenylpropiolsäure in Natronlauge und Wasser) werden mit etwa 10 Tropfen des zu untersuchenden Urins zersetzt, dann etwa ¼ Minute gekocht. Wird die Lösung dunkelblau, so sind reducirende Substanzen mindestens = 0,5% Zucker vorhanden. Normaler Urin gibt erst bei Zusatz von mindestens 1 cbcm. Grünfärbung, eine deutliche Blaufärbung ist auch bei grösseren Mengen gewöhnlich nicht zu erzielen.

Eiweisshaltiger Urin kann ebenso untersucht werden, er kann auch vorher durch Kochen und Zusatz von Essigsäure auf Eiweiss untersucht werden und von der Lösung mit den Eiweisscoagulis die nöthige Menge entnommen werden, ohne dass die Reaction leidet.

Wenn ich also diese Reaction der Indigobildung mit Hilfe von zuckerhaltigem Urin den zahlreichen Zuckerproben anreihe, so thue ich das nur, weil

1. man dabei nur eines fertigen, haltbaren Reagens benöthigt,
2. die Reaction sich mit ganz geringen Mengen von Urin ausführen lässt, und
3. dieselbe durch Eiweissgehalt des Urins kaum beeinträchtigt wird.

Ueber die Bestimmung kleiner Mengen Eisen nach Hamburger.

Von

Huppert.

(Der Redaction zugegangen am 11. Juni 1892.)

Das Verfahren von Hamburger[1]) unterscheidet sich von anderen dadurch, dass zur Reduction des Eisenoxyds schweflige Säure verwendet wird. Die schweflige Säure wurde an die Stelle des sonst gebrauchten Zinks gesetzt, weil das käufliche Zink niemals frei ist von anderen das Chamäleon reducirenden Substanzen, namentlich Eisen, und weil man ferner nicht die geringste Gewähr dafür hat, dass das Eisen in dem Zink ganz gleichmässig vertheilt sei, eine Correctur aus der Bestimmung des Eisens in einer Probe Zink demnach die Bestimmung so geringer Mengen Eisen, wie sie in thierischen Geweben und Flüssigkeiten vorkommen, auf's Neue sehr unsicher machen muss. Von diesem Vorwurf ist die schweflige Säure bestimmt frei, und wenn es möglich ist, den Ueberschuss an schwefliger Säure wieder vollständig aus der Versuchsflüssigkeit zu entfernen und somit eine Reduction des Permanganats durch die schweflige Säure zu vermeiden, so wäre an dem Verfahren Hamburger's weiter nichts auszusetzen.

---

[1]) E. W. Hamburger, diese Zeitschr., Bd. 2, S. 195, 1878; Bd. 4, S. 249, 1880.

Auf Grund eigener Versuche hat nun Jacobj[1]) die Möglichkeit, dass die schweflige Säure aus der Versuchsflüssigkeit vollständig ausgetrieben werden könne, bestritten und sogar die Grösse des Fehlers bestimmt, der durch die rückständige Säure verursacht werde. Gottlieb[2]) hat dann bei der Beschreibung eines von ihm angegebenen Verfahrens zur Bestimmung kleiner Mengen Eisen den von Jacobj erhobenen Einwand dahin ausgelegt, dass die Methode Hamburger's erhebliche Fehler veranlasse.

Dem Einwurf von Jacobj liegt jedoch ein Irrthum zu Grunde, den ich wohl besser als ein Anderer aufzuklären im Stande bin, da Hamburger, der selbst keine Auskunft mehr geben kann, sein Verfahren unter meinen Augen und in fortwährendem Verkehr mit mir ausgearbeitet hat.

Auch Hamburger hat anfangs dieselben unbefriedigenden Erfahrungen gemacht, wie Jacobj, es misslang sehr oft, die schweflige Säure aus der Versuchsflüssigkeit vollständig zu entfernen. Das war aber nur so lange der Fall, als zum Einfügen der Gasleitungsrohre in das Siedegefäss Kork oder Kautschuck benützt wurde. Als dann der Apparat mit eingeschliffenen Rohren versehen wurde, trat der Fehler nicht ein. Es war bei Verwendung von Kork oder Kautschuck schweflige Säure von diesen Dichtungsmitteln, namentlich vom Kork, aufgenommen und von dem entwickelten Wasserdampf wieder in die Versuchsflüssigkeit zurückgespült worden. Jacobj hat aber die Gasleitungsrohre, wie er ausdrücklich angibt, mit Kork in die Kochflasche eingesetzt, und so ist es nicht mehr auffallend, dass er zu so schlechten Resultaten gelangte.

Hamburger hat in der Beschreibung seines Verfahrens allerdings nicht ausdrücklich auf diese Fehlerquelle aufmerksam gemacht, aber jetzt wird es wohl verständlich sein, dass er nicht ohne Grund betont hat, er habe Kolben mit ein-

---

[1]) J. Jacobj, Ueber Eisenausscheidung aus dem Thierkörper, Inaugural-Dissertation, Strassburg 1887, S. 22.

[2]) R. Gottlieb, Archiv f. exper. Pathologie, Bd. 26, S. 139, 1890.

geschliffenen Gasleitungsrohren verwendet. Verfährt man streng nach Hamburger's Vorschrift, so fallen die Eisenbestimmungen ausserordentlich genau aus. Man verbraucht, wie ich auch aus eigner Erfahrung angeben kann, bei der Titrirung einer Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydul nach der Behandlung mit schwefliger Säure nicht einen Tropfen Permanganat mehr, wie vorher. Die Bestimmungen vor und nach der Behandlung mit der schwefligen Säure fallen ganz gleich aus. Das Einzige, was ich der Beschreibung des Hamburger'schen Verfahrens etwa hinzuzufügen hätte, ist der Rath, die Versuchsflüssigkeit auf ein recht kleines Volumen einzukochen. Dann ist die schweflige Säure sicher ausgetrieben, und das vorgelegte Permanganat entfärbt sich nicht mehr.

Zur Verstärkung seines Einwandes gegen das Hamburger'sche Verfahren führt Jacobj noch an, dass Hamburger für das in 24 Stunden normal ausgeschiedene Eisen auf 100 cbcm. Harn und 1000 gr. Hund einen höheren Werth gefunden habe, als Dietl und Jacobj. Mit einer solchen Rechnung ist gegen die Verlässlichkeit einer Methode gar nichts bewiesen; sie hat zur Voraussetzung, dass ein Hund auf 1 Kilo Körpergewicht mit 1 Liter Harn in 24 Stunden unter allen Umständen nur beiläufig so viel Eisen ausscheiden dürfe, als von Dietl und von Jacobj gefunden wurde. Hamburger's Versuchshund hätte ja nur mehr Wasser zu trinken brauchen und die im Liter Harn ausgeschiedene Menge Eisen wäre der Dietl-Jacobj'schen Zahl schon näher gekommen. Es wird auch Niemand den Einfluss der Nahrung und des Ernährungszustandes auf die Eisenausscheidung in Abrede stellen wollen. Gottlieb hätte nun vollends nicht nöthig gehabt, als Beweis gegen Hamburger den Umstand anzuführen, dass Hamburger im menschlichen Harn mehr Eisen gefunden habe, als Gottlieb; denn Hamburger[1]) selbst hat diesen älteren Bestimmungen, weil das Eisen in salzsaurer Lösung titrirt war, die Giltigkeit abgesprochen.

---

[1]) Hamburger, diese Zeitschr., Bd. 2, S. 196.

Hamburger's Methode gibt vollkommen richtige Resultate; die Reduction des Eisenoxyds mit schwefliger Säure ist sauberer als die mit Zink und erfordert keine, noch obendrein unsichere Correctur, wie die Reduction mit Zink; das Verfahren ist leicht ausführbar, viel leichter als das von Gottlieb, und erfordert nicht viel Zeit, da der Apparat, wenn das Auskochen einmal im Gang ist, sich selbst überlassen werden kann. Umständlich ist das Verfahren nur durch die Darstellung der schwefligen Säure und die Beschaffung der Kochkolben; aber auch diese Schwierigkeiten lassen sich überwinden. Ich kann daher das Hamburger'sche Verfahren nur angelegentlich empfehlen.

Beiträge zur Methodik der quantitativen Salzsäurebestimmung im Mageninhalt.

Von

Dr. A. Kossler,

Assistenten des deutschen med.-chem. Institutes in Prag.

(Aus dem medicinisch-chemischen Institute der k. k. deutschen Universität in Prag.)

(Der Redaction zugegangen am 11. Juni 1892.)

Bei der Wichtigkeit, welche der Kenntniss des Gehaltes des Magensaftes an freier Salzsäure für die Beurtheilung der krankhaften Störungen der Magenfunction zukommt, ist es erklärlich, dass die Kliniker schon seit geraumer Zeit der quantitativen Bestimmung der freien Salzsäure im Mageninhalt eine besondere Aufmerksamkeit zuwendeten und bestrebt waren, für diesen Zweck ein sicheres und leicht ausführbares Verfahren ausfindig zu machen.

Von den zahlreichen Methoden, welche diesen Bemühungen ihren Ursprung verdanken, können viele höchstens als approximative Schätzungen angesehen werden und nur einige wenige, die auf exacter chemischer Grundlage aufgebaut waren, vermochten das Vertrauen der Chemiker zu erwerben; unter den letzteren sind insbesondere die von Sjöqvist, Leo, Winter und Hoffmann empfohlenen Methoden anzuführen. Es schien eine jede derselben nach den von ihren Autoren ausgeführten Betrachtungen für die quantitative Bestimmung der physiologisch wirksamen Salzsäure wohl anwendbar. Doch ergaben einige in neuerer Zeit ausgeführte vergleichende Untersuchungen beträchtliche Abweichungen in den für den gleichen Mageninhalt nach verschiedenen Methoden gewonnenen Resultaten;

so fand K. Wagner[1]) bei der Untersuchung des Mageninhaltes von Menschen und Hunden nach der Methode von Sjöqvist erheblich weniger Salzsäure als nach der von Winter; auch A. Hoffmann[2]) berichtet, bei einer grösseren Reihe von vergleichenden Untersuchungen nach Sjöqvist und seiner eigenen Methode zum Theil Differenzen erhalten zu haben, welche die Fehlergrenzen weit übertrafen.

Diese Angaben veranlassten mich, einige der gebräuchlichsten Methoden zur Bestimmung der physiologisch wirksamen Salzsäure einer genauen Nachprüfung zu unterwerfen, um diejenigen kennen zu lernen, welche ihrem Zwecke wirklich entsprechen, und zugleich eine Anschauung darüber zu gewinnen, wie die bei Untersuchung des natürlichen Magensaftes mittels verschiedener Methoden erhaltenen Unterschiede zu erklären seien.

Bevor ich zur Darstellung meiner eigenen Untersuchungen schreite, möchte ich den Standpunkt näher kennzeichnen, den man bei der vergleichenden Beurtheilung des Werthes und der Anwendbarkeit der einzelnen Methoden zur quantitativen Salzsäurebestimmung einzunehmen hat. Man muss streng unterscheiden, ob ein Verfahren die gesammte physiologisch wirksame Salzsäure zu bestimmen gestattet, oder ob man nach demselben nur die im chemischen Sinne wirklich freie Salzsäure aufzufinden vermag. Bekanntlich findet sich ja die Salzsäure in der Verdauungsflüssigkeit in zwei wesentlich verschiedenen Zuständen vor. Wenn man in einer gewissen Phase der Eiweissverdauung den Mageninhalt untersucht, so kann man neben unverändertem Eiweiss auch Acidalbumin und Albumosen in demselben nachweisen; es ist also nicht die gesammte bis dahin secernirte Salzsäure, so weit sie nicht zur Sättigung der mit den Speisen eingeführten, alkalisch reagirenden Salze verbraucht worden war, als freie, gänzlich ungebundene Säure in der Flüssigkeit vorhanden, sondern ein

[1]) K. E. Wagner, Arch. de Physiologie norm. et path., Bd. 23, S. 440, 1891, u. Wratsch, 1891, No. 7 (russisch). Im Wratsch die in den Arch. fehlende Tabelle.

[2]) A. Hoffmann, Centralbl. f. klin. Med., Bd. 11, S. 521.

Theil befindet sich in Verbindung mit Acidalbumin und den bereits gebildeten Albumosen. Sind wir nun berechtigt, diesen Antheil der Salzsäure als physiologisch wirksam anzusehen, ihm bei Gegenwart von Pepsin proteolytische Wirkung zuzusprechen?

Salkowski[1]) hat in neuerer Zeit darauf hingewiesen, dass die Salzsäure durchaus nicht vollständig frei zu sein brauche, um ihre proteolytische Function bei der Verdauung entfalten zu können; seine Versuche haben gezeigt, dass bei Anstellung künstlicher Verdauungsversuche mit salzsauren Amidosäuren (Leucin, Alanin) gleichfalls Pepton gebildet wird, und bereits A. Dogiel[2]) hat angegeben, dass sich nach Mittheilung von Prof. Huppert die an das Casein gebundene Salzsäure bei der Verdauung wie freie Salzsäure verhalte.

Dass auch die an Eiweiss gebundene Salzsäure ihre physiologische Wirksamkeit bei der Verdauung nicht einbüsst, lässt sich direct durch folgenden Versuch beweisen, den ich nach einer mir von Prof. Huppert gegebenen Anweisung ausgeführt habe.

Eine durch Einwirkung von überschüssiger Salzsäure auf Eiweiss hergestellte Acidalbuminlösung wurde so lange vorsichtig mit verdünnter Natronlauge versetzt, bis sich die erste schwache, auch bei längerem Schütteln nicht mehr verschwindende Trübung einstellte. Es enthielt dann die Lösung gewiss keine freie Säure mehr, da ja das nur in seiner Verbindung mit Säure lösliche Acidalbumin bereits auszufallen begann. Wenn man nun eine in dieser Weise vorgerichtete Acidalbuminlösung mit einer genügenden Menge neutralen und eiweissfreien Pepsins versetzt und durch einige Stunden bei Körpertemperatur digerirt, so kann man nach dieser Zeit mittels der bekannten Methoden (Hofmeister und Devoto) in der Flüssigkeit reichliche Mengen von Pepton nachweisen.

Dieser Versuch, auf welchen ich noch später zurückzukommen Gelegenheit haben werde, beweist, dass auch der

---

[1]) Salkowski u. Kumagawa, Virchow's Archiv, Bd. 122, S. 235, 1890; Salkowski, daselbst, Bd. 127, S. 501, 1892.

[2]) A. Dogiel, diese Zeitschr., Bd. 9, S. 610, 1885.

an Eiweiss gebundenen Salzsäure physiologische Wirksamkeit zukommt. Man muss somit an eine Methode, mittels welcher man die gesammte physiologisch wirksame Salzsäure bestimmen will, die Anforderung stellen, dass sie nicht nur die Bestimmung der freien, sondern auch die der an Eiweiss gebundenen Salzsäure möglich mache.

Die folgenden Versuche sollen zeigen, in wie weit die einzelnen in den Bereich meiner Untersuchungen einbezogenen Methoden dieser Bedingung entsprechen.

Die Methode von A. Hoffmann[1]).

Das Princip, welches Hoffmann bei der Ausarbeitung seiner Methode benützte, ist folgendes. Rohrzucker wird bekanntlich in wässeriger Lösung durch Säuren invertirt, wobei das optische Drehungsvermögen der Lösung einer Aenderung unterliegt. Die Geschwindigkeit, mit welcher die Inversion erfolgt, ist, abgesehen von der Concentration der Zuckerlösung, der Dauer der Einwirkung und der Höhe der Temperatur, einerseits abhängig von der Menge der angewendeten Säure, andererseits von der relativen Affinität derselben. Da nun nach Ostwald die Acidität der im Mageninhalt eventuell vorkommenden organischen Säuren gegenüber der der Salzsäure eine verschwindend geringe ist, so kann man die von einem Magensaft bewirkte Inversion einer Rohrzuckerlösung auf die in demselben vorhandene Salzsäure allein beziehen, ohne einen erheblichen Fehler zu begehen.

Die Inversion findet darin ihren Ausdruck, dass die Rechtsdrehung des Rohrzuckers zunächst abnimmt, weil der entstandene Invertzucker links dreht, und dass zuletzt nur Linksdrehung beobachtet wird, wenn der Invertzucker vorherrscht oder allein vorhanden ist. Der Grad der jeweiligen Inversion lässt sich leicht und sehr genau mit Hilfe eines empfindlichen Polarimeters messen, und durch Bestimmung der in derselben Rohrzuckerlösung durch eine bekannte Menge Salzsäure bei gleicher Versuchsdauer hervorgebrachten Inversion

---

[1]) A. Hoffmann, Centralbl. f. klin. Med., 1889, No. 46.

gewinnt man alle nöthigen Daten, um die im untersuchten Mageninhalt vorhandene Salzsäuremenge berechnen zu können.

Später hat Hoffmann[1]) unter Beibehaltung des Princips seine Methode insofern vereinfacht, als er derselben statt der Inversion des Rohrzuckers die Spaltung des Methylacetats in Methylalkohol und Essigsäure zu Grunde legte, wobei die Menge des einen der entstandenen Spaltungsproducte, der Essigsäure, durch Titration bestimmt werden kann.

Nach meinen eigenen Erfahrungen erhält man nach dem Verfahren von Hoffmann dort, wo es sich nur um die Bestimmung freier Salzsäure handelt, wenn sich dieselbe z. B. in wässeriger Lösung befindet, sehr genaue Resultate. Sobald man aber mit Gemengen arbeitet, denen salzfreies Albumin oder (Witte'sches) Pepton, welches keine salzsäurebindenden anorganischen Salze enthielt, zugesetzt worden war, so wird ein geringerer oder grösserer Antheil der Salzsäure verdeckt; dieser Antheil übt keine katalytische Wirkung auf den Rohrzucker oder das Methylacetat mehr aus und entzieht sich in Folge dessen der Bestimmung. Ich will einige Versuche mittheilen, welche dieses Verhalten darthun sollen. Bezüglich der Anordnung und Ausführung meiner Versuche sei Folgendes bemerkt.

Bei den Versuchen mit Rohrzucker wurde so vorgegangen, dass die Proben möglichst gleichzeitig zubereitet, dann sofort in ein Wasserbad von constanter Temperatur (40° C.) gebracht und durch einige Stunden in demselben belassen wurden. Wenn der Versuch abgebrochen werden sollte, wurden schnell alle Proben, um ein Fortschreiten der Reaction zu verhindern, mit Calciumcarbonat in geringem Ueberschuss versetzt und filtrirt. Die polarimetrische Untersuchung der Filtrate wurde mit Hilfe eines Lippich'schen Halbschattenapparates von Rothe ausgeführt, welcher noch 0,005° abzulesen gestattete.

In den Versuchen mit Methylalkohol verwendete ich von Kahlbaum bezogenen Ester, welcher zunächst durch Natronhydrat von aus theilweiser Zersetzung stammender Säure befreit, dann durch $CaCl_2$ entwässert und schliesslich durch Destillation rein gewonnen worden war. Die Titration wurde mit Barytwasser und einer empfindlichen Lackmuslösung als Indicator ausgeführt.

---

[1]) A. Hoffmann, Verhandlungen des X. internationalen medic. Congresses in Berlin, Bd. II, 5. Abth., Innere Medicin, S. 201.

Versuch mit Albumin und Rohrzucker.

Die verwendete Salzsäure enthielt in 10 cbcm. 0,1 gr. HCl, die Albuminlösung in 30 cbcm. 0,5 gr. aschearmes Albumin. Drehung der Rohrzuckerlösung in fünffacher Verdünnung: $\alpha_D = 1,964^0$.

Sämmtliche angeführten Zahlen sind Mittel aus gut übereinstimmenden Doppelbestimmungen. Versuchsdauer: 4 Stunden. Die Versuchsflüssigkeiten enthielten in 100 cbcm. 0,2 gr. HCl.

		am Ende des Versuchs:	
1.	10 cbcm. Zuckerlösung + 10 cbcm. HCl + 30 cbcm. H_2O	$\alpha_D = 0,589^0$	
2.	10 cbcm. Zuckerlösung + 10 cbcm. HCl + 30 cbcm. Albuminlösung.	$\alpha_D = 0,758^0$	0,9775°
3.	30 cbcm. Albuminlösung + 10 cbcm. HCl + 10 cbcm. H_2O	$\alpha_D = -0,2195^0$	

Die neben Zucker und Salzsäure noch Albumin enthaltende Lösung (No. 2) zeigte am Ende des Versuchs eine Rechtsdrehung von 0,758°; auf das noch in Lösung befindliche Albumin allein (das Acidalbumin war in beiden Proben durch das $CaCO_3$ gefällt) kam davon, nach No. 3, eine Linksdrehung von 0,2195°, um welche die Rechtsdrehung von No. 2 vermindert war, wenn dort (in No. 2) die Rechtsdrehung des Zuckers allein zum Ausdruck gekommen wäre. Die durch den Zucker allein bewirkte Drehung in No. 2 erfährt man also, wenn man die Linksdrehung der Albuminlösung (No. 3) als positive Grösse der beobachteten Drehung in No. 2 hinzuaddirt. Man erhält dann 0,9775°, das heisst also, so stark hätte das Gemisch von rückständigem Rohrzucker und neu gebildetem Invertzucker gedreht, wenn die Flüssigkeit eiweissfrei untersucht worden wäre.

In der albuminhaltigen Lösung ist also die Drehung grösser, die Inversion bei gleichem Salzsäurezusatz weniger weit vorgeschritten als in der reinen Rohrzuckerlösung. Offenbar hat das seinen Grund darin, dass sich der an das Albumin gebundene Antheil Salzsäure an der Inversion entweder gar nicht oder doch in viel geringerem Grade betheiligt hat.

Versuch mit Pepton und Rohrzucker.

Eine Lösung von ca. 8 gr. Witte'schem Pepton[1]) in 100 cbcm. einer 1°/₀ Salzsäure.

Drehung der Rohrzuckerlösung in fünffacher Verdünnung: $\alpha_D = 1{,}98°$. Versuchsdauer: 3½ Stunden.

1. 10 cbcm. Zuckerlösung + 10 cbcm. HCl (1°/₀) + 30 cbcm. H_2O	$\alpha_D =$	0,762°	
2. 10 cbcm. Zuckerlösung + 10 cbcm. Peptonlösung + 30 cbcm. H_2O	$\alpha_D =$	0,331°	1,328°
3. 10 cbcm. Peptonlösung + 40 cbcm. H_2O .	$\alpha_D =$	—0,997°	

Auch hier ist wiederum die Inversion des Rohrzuckers in der Probe mit Pepton eine geringere geblieben, als in der Controllprobe mit der gleichen Menge Salzsäure.

Versuch mit Pepton und Methylacetat.

5 gr. Witte'sches Pepton gelöst vermittelst 62,5 cbcm. HCl (1°/₀) zu 100 cbcm.

Das Methylacetat wurde in fünffacher Verdünnung angewandt. Das Methylacetat wurde abgemessen und sein Gewicht unter Berücksichtigung der Temperatur nach den von Elsässer[2]) gegebenen Daten berechnet.

Die Proben blieben durch 6 Stunden im Wasserbad von 35° C., dann wurden zweimal je 10 cbcm. einer jeden Probe titrirt und aus der gefundenen Menge Essigsäure die Menge des zersetzten Methylacetats berechnet.

	Menge des nach beendigtem Versuch zersetzten Methylacetats:
1. 25 cbcm. HCl (1°/₀), 65 cbcm. H_2O, 10 cbcm. Ester . .	0,608 gr.
2. 40 cbcm. Peptonlösung (= 0,25 gr. HCl), 50 cbcm. H_2O, 10 cbcm. Ester	0,428 gr.

So wie die Inversion des Rohrzuckers ist auch die Spaltung des Methylacetats durch Säure bei Gegenwart von Pepton eine geringere, als der Säuremenge entspricht.

---

[1]) Das Witte'sche Pepton, obwohl nicht aschefrei (chlorhaltig), enthielt keine in's Gewicht fallende Menge von säurebindenden anorganischen Salzen; ich konnte mich hiervon durch Bestimmungen nach Sjöqvist, in welchen dem Pepton zugesetzte Salzsäure vollständig wiedergefunden wurde, überzeugen.

[2]) E. Elsässer, Annalen der Chemie, Bd. 218, S. 312.

Zur Entscheidung der Frage, ob die an Eiweiss gebundene Salzsäure ihre Einwirkung auf Rohrzucker oder Methylacetat völlig eingebüsst hat und das Zersetzungsvermögen somit nur der völlig freien Säure zukommt, oder ob die Zersetzung des Rohrzuckers nur viel langsamer verläuft und dadurch der Ausfall in der Grösse der Inversion durch Salzsäure bei Gegenwart von Eiweiss hervorgebracht wird, wurde der folgende Versuch unternommen, welcher zugleich zeigen sollte, dass sich der Begriff der freien Salzsäure durchaus nicht mit dem der physiologisch wirksamen, wie Hoffmann annimmt, deckt[1]).

116 cbcm. einer 4,35procentigen Lösung von aschefreiem Albumin wurden auf 321 cbcm. verdünnt und mit 31,9 cbcm. verdünnter Salzsäure versetzt, welche in 3 cbcm. genau 0,1 gr. HCl enthielt. Die Mischung enthielt dann 0,3 % HCl und ausserdem in 70 cbcm. 1 gr. Eiweiss; zur Bildung von Acidalbumin wurde dieselbe hierauf durch 15 Stunden bei 40° C. digerirt. Sodann wurde in einer Probe ermittelt, welche Menge Natronhydrat zugesetzt werden musste, um die erste bleibende Trübung zu bewirken (s. o. S. 93). Hierzu waren für 10 cbcm. Acidalbuminlösung 2,25 cbcm. einer Natronlauge nöthig, von welcher 9 cbcm. genau 0,1 gr. HCl entsprachen, für 70 cbcm. Eiweisslösung somit 15,8 cbcm. Natronlauge; es betrug also die Menge der in 70 cbcm. Eiweisslösung an Acidalbumin gebundenen Säure 0,035 gr.

Zur Prüfung der Inversion wurden die in folgender Tabelle zusammengesetzten Proben angesetzt, nach sieben-

---

1) Centralblatt f. kl. Med., Bd. 11, S. 521. Hoffmann sagt daselbst: «Es ist schon hinreichend hervorgehoben, dass sich die HCl im Mageninhalt in zwei wesentlich verschiedenen Zuständen finden kann, ein Theil ist ganz frei und physiologisch wirksam, er wirkt auf die bekannten Farbstoffe, als deren Prototyp man das Tropaeolin OO betrachten kann. Der andere Theil ist durch schwache Basen (Eiweiss?) gebunden, er reagirt nicht auf Tropaeolin, wohl aber noch auf Lackmus und Phenolphthalein, er ist physiologisch nicht wirksam..... Die Polarisation bestimmt nur die erstere, die physiologisch wirksame.»

stündiger Versuchsdauer mit $CaCO_3$ neutralisirt und ihr optisches Drehungsvermögen bestimmt:

		nach beendigtem Versuch:	
1.	70 cbcm. Acidalbuminlösung + 15,8 cbcm. NaOH + 14,2 cbcm. Zuckerlösung . . .	α_D = 2,992°	3,1407°
2.	20 cbcm. Acidalbuminlösung + 4,5 cbcm. NaOH + 4,1 cbcm. H_2O	α_D = −0,1487°	
3.	14,2 cbcm. Zuckerlösung + 3,5 cbcm. HCl (1%) + 82,5 cbcm. H_2O	α_D = 2,379°	

Alle Lösungen enthielten gleich viel HCl an Acidalbumin gebunden (1 und 2) oder frei (3), nämlich 0,035 gr. in 100 cbcm.

Die zur Prüfung verwendete Zuckerlösung zeigte in der den Versuchen entsprechenden Verdünnung: $\alpha_D = 3,12°$; wenn wir zu der in Probe 1 gefundenen Drehung der Polarisationsebene jenen sich aus Probe 2 ergebenden Werth hinzufügen, um welchen dieselbe in Folge der Linksdrehung des Eiweisses zu gering gefunden wurde, so erhalten wir als wirkliche Rechtsdrehung der Probe 1 $\alpha_D = 3,14°$, also eine Zahl, welche mit der für die verwendete Zuckerlösung ermittelten Drehung so gut wie identisch ist. Es hat somit gar keine Einwirkung von Seite der im Acidalbumin gebundenen Salzsäure auf den Rohrzucker stattgefunden, die dem Acidalbumin äquivalente Menge freier Säure hingegen hat (in Probe 3) eine bedeutende Abnahme der Rechtsdrehung durch Inversion des Rohrzuckers hervorgebracht.

Ausserdem wurden mit der gleichen Acidalbuminlösung zwei Verdauungsversuche in folgender Weise unternommen: 70 cbcm. Acidalbuminlösung wurden, wie oben, mit 15,8 cbcm. NaOH versetzt, 1 cbcm. einer kräftigen, neutralen und eiweissfreien Pepsinlösung hinzugefügt und das Volumen der Flüssigkeit auf 100 cbcm. gebracht. Beide Proben wurden durch 30 Stunden bei 40° C. der Verdauung überlassen. Es liessen sich nach dieser Zeit in der einen Probe durch die Methode von Devoto reichliche Mengen von Pepton nachweisen. In der anderen Probe wurde das Eiweiss nach Hofmeister gefällt, das Volumen der Flüssigkeit sammt Niederschlag auf 250 cbcm. aufgefüllt, vom Filtrat 200 cbcm. abgemessen und bis auf 40 cbcm. eingedampft; die gewonnene eiweissfreie Lösung

zeigte die beträchtliche Linksdrehung von 2 α_D = —0,220°, und gab eine ausserordentlich deutliche Biuretreaction.

Eine ebensolche Versuchsreihe mit Verwendung von Methylacetat statt Rohrzucker führte zu dem gleichen Resultat; auch das Methylacetat erfährt durch Acidalbumin keine Veränderung.

Die letztangeführten Versuche zeigen, dass die an Acidalbumin gebundene Salzsäure, deren physiologische Wirksamkeit durch die bei Zusatz von Pepsin eintretende Peptonisation ausser allem Zweifel gestellt ist, keine Spaltung des Rohrzuckers und des Methylacetats hervorzurufen vermag und sich somit bei dem Verfahren nach Hoffmann der Entdeckung und Bestimmung entzieht.

Hoffmann spricht sich dahin aus[1]), dass sich die nach seiner Methode gefundenen Zahlen «lediglich auf freie» Salzsäure beziehen. Ich kann diese Angabe insofern bestätigen, als auch meine Versuche ergeben haben, dass man nach seiner Methode nur die freie Salzsäure findet, und ich möchte ihre Anwendung dort, wo es sich um die Bestimmung dieser handelt, wegen ihrer Exactheit und leichten Ausführbarkeit angelegentlichst empfehlen. Hingegen kann ich Hoffmann nicht beistimmen, wenn er erklärt, dass die nach seinem Verfahren gewonnenen Werthe «das wahre Maass der physiologischen Wirksamkeit darstellen», da ja ein Theil der physiologisch wirksamen Salzsäure, die an Eiweiss gebundene, gänzlich der Bestimmung entgeht.

Die Methode von Leo.

Leo[2]) ging bei der Wahl seiner Methode, welche die Bestimmung der freien Säure neben dem zweifach sauren Phosphat zum Zwecke hat, von folgender Voraussetzung aus. Freie Säure wird schon in der Kälte völlig durch Calciumcarbonat neutralisirt, während Lösungen von zweifach saurem

---

[1]) Centralbl. f. klin. Med., Bd. 11, S. 521.

[2]) H. Leo, Centralbl. f. d. med. Wiss., 1889. No. 26, S. 481, und Diagnostik der Krankheiten der Verdauungsorgane, S. 114.

Phosphat das Calciumcarbonat nicht zersetzen. Es tritt also bei der Behandlung einer freie Säure und zweifach saures Phosphat enthaltenden Flüssigkeit mit Calciumcarbonat ein Aciditätsverlust ein, welcher der Menge der vorhandenen freien Säure entspricht. Da jedoch während der Reaction Chlorcalcium entsteht, und die gleiche Quantität von zweifach saurem Phosphat bei Gegenwart einer genügenden Menge Chlorcalcium doppelt so viel Lauge zur Neutralisation braucht, als bei Abwesenheit von Chlorcalcium (in Folge der Bildung von normalem Calciumphosphat), so sind sämmtliche acidimetrische Titrationen unter Zusatz von überschüssigem Chlorcalcium auszuführen.

Gegen die Giltigkeit der Grundlage dieser Methode haben jedoch A. Hoffmann und Julius Wagner[1]) gewichtige Einwände erhoben, indem sie die von Leo angenommene Voraussetzung, dass $CaCO_3$ und zweifach saures Phosphat nicht auf einander einwirken, bestritten und durch Versuche zeigten, dass eine solche Einwirkung thatsächlich stattfindet. Wagner konnte sogar in einem Falle bei der Behandlung einer Lösung von zweifach saurem Phosphat mit $CaCO_3$ einen Aciditätsverlust von über 30 % constatiren, wobei allerdings zu bemerken ist, dass er sich zur Entfernung der CO_2 des Kochens bediente, was Leo selbst als unstatthaft bezeichnet hatte[2]).

Aber auch in einer späteren Arbeit findet Wagner[3]) seine Einwände gegen die Leo'sche Methode selbst dann als zu Recht bestehend, wenn man streng nach der von Leo in seinem Lehrbuche gegebenen Vorschrift arbeitet; die hierbei gefundenen Fehler sind, wenn sie auch die Höhe des in der ersten Arbeit angeführten Verlustes nicht mehr erreichen, noch immer sehr bedeutend (bis zu 17,8 %).

Wenn man somit die Grundlage der Leo'schen Methode nicht für alle Fälle als streng richtig ansehen kann, so lässt

---

[1]) A. Hoffmann u. J. Wagner, Centralbl. f. klin. Med., 1890, No. 40.
[2]) Leo, Diagnostik, S. 116, Fussnote.
[3]) Jul. Wagner, Pflüger's Archiv, Bd. 50, S. 375.

sich daraus nicht unmittelbar ihre Anwendbarkeit für physiologische Flüssigkeiten, die ja nur geringe Mengen der reagirenden Substanzen enthalten, bestreiten, wie schon Leo[1]) hervorgehoben hat. Die Phosphatlösungen, mit denen Wagner arbeitete, waren relativ concentrirte, — die verdünnteste seiner Lösungen enthielt ein Gramm-Molekül KH_2PO_4 in 10 Litern, i. e. 1,36% KH_2PO_4. Es ist fraglich, ob der Gehalt des Magensaftes an Phosphat jemals diese Höhe erreicht; wenigstens fand Rosenheim[2]), welcher einige hierauf bezügliche Analysen ausführte, in den untersuchten Verdauungsflüssigkeiten bei Weitem geringere Mengen Phosphorsäure, im Maximum 0,94 gr. P_2O_5 im Liter, oder auf KH_2PO_4 umgerechnet 0,18%.

Ich trachtete bei meinen Untersuchungen über die Anwendbarkeit der Leo'schen Methode möglichst den physiologischen Bedingungen nahe zu kommen und theile in nachstehender Tabelle die Resultate mit, welche bei der Analyse von Lösungen bekannter Zusammensetzung nach dieser Methode gewonnen wurden.

Bezüglich der benützten Reagentien sei Folgendes bemerkt: Das zu den Versuchen verwendete zweifach saure Kaliumphosphat wurde aus käuflichem durch Hinzufügen von Phosphorsäure und wiederholtes Umkrystallisiren rein gewonnen, es war frei von Chlor und Erdalkalimetallen; der Wasserverlust des bei 100° getrockneten Salzes beim Schmelzen betrug 13,19% (ber. 13,24%). Die Chlorcalciumlösung und das Calciumcarbonat waren vollkommen neutral. Zur Titration wurde aus metallischem Natrium bereitete Natronlauge verwendet von folgendem Titer: 13,8 cbcm. NaOH = 0,1 gr. HCl (Phenolphtalein). Im Uebrigen wurden die Versuche genau nach der von Leo gegebenen Vorschrift und zwar stets doppelt ausgeführt. Die in Columne 4 der Tabelle angeführten Zahlen sind Mittel solcher Doppelbestimmungen, welche bei genauer Arbeit stets gut mit einander übereinstimmen, ja zumeist identisch ausfallen.

---

[1]) Leo u. Friedheim, Pflüger's Archiv, Bd. 48, S. 614.

[2]) Rosenheim, Deutsche med. Wochenschr., 1891, No. 49, S. 1323.

	Die Lösung enthielt in 100 cbcm.:			Differenz in der Acidität vor und nach der Behandlung mit $CaCO_3$ ausgedrückt in cbcm. NaOH (13,8 cbcm. = 0,1 gr. HCl.	Daraus berechnete % HCl.	Fehler in % der angewendeten HCl-Menge.
	gr. KH_2PO_4.	gr. HCl.	gr. Pepton.			
1	0,1	0,1	—	14,125	0,1024	+ 2,4 %
2	0,1	0,2	—	28,125	0,2038	+ 1,9 %
3	0,1	0,25	—	35,375	0,2563	+ 2,45 %
4	0,2	0,1	—	14,5	0,1051	+ 5,1 %
5	0,2	0,2	—	28,25	0,2047	+ 2,35 %
6	0,3	0,1	—	14,75	0,1069	+ 6,9 %
7	0,3	0,25	—	35,625	0,2581	+ 3,24 %
8	0,1	0,25	1,0	34,0	0,2464	— 1,44 %
9	0,1	0,25	0,5	34,75	0,2518	+ 0,72 %
10	0,1	0,25	1,5	33,25	0,2409	— 3,64 %
11	0,1	0,3	0,8	41,25	0,2989	— 0,36 %
12	0,1	0,3	1,6	40,75	0,2953	— 1,57 %
13	—	0,75	4,0	103,0	0,7464	— 0,48 %

Wie man aus dieser Versuchsreihe ersieht, lassen sich mit Hilfe der Leo'schen Methode zwar nicht absolut richtige Zahlen erhalten, doch übersteigen die Fehler nicht einige wenige Procente, und nur da, wo die Menge des Phosphats im Verhältniss zu der der Säure eine etwas grössere ist, wird der Fehler etwas erheblicher (Versuch 6). Bei Anwesenheit von Pepton in der Lösung fällt die Salzsäurebestimmung etwas zu niedrig aus, weil sich in der Kälte und bei der kurzen Dauer der Einwirkung das salzsaure Pepton mit dem kohlensauren Kalk nicht vollständig umsetzt. Ich glaube daher, dass die Methode dem praktischen Bedürfnisse des Klinikers sehr wohl entspricht, um so mehr, als der Gehalt des Magensaftes an Phosphat die in diesen Versuchen eingehaltenen Grenzen kaum jemals übersteigen dürfte. Für die Beurtheilung der Functionstüchtigkeit eines Mageninhaltes ist es gewiss ganz gleichgiltig, ob man in demselben z. B. 2,0 oder 2,04 pro mille Salzsäure findet.

Nicht überflüssig scheint es, hervorzuheben, dass die Leo'sche Methode den wesentlichen Vortheil bietet, dass nach derselben nicht nur die freie, sondern auch die an

Eiweiss gebundene Salzsäure bestimmt wird, indem sich ja das Acidalbumin, wie auch das salzsaure Pepton mit dem kohlensauren Kalk bis auf einen minimalen Rest umsetzen. Man ist also in der Lage, mittels des Verfahrens von Leo die gesammte physiologisch wirksame Salzsäuremenge zu ermitteln.

Bezüglich der Verwerthbarkeit des Resultates ist noch auf einen zweiten Punkt hinzuweisen. Die gewonnenen Zahlen lassen sich nur dann ohne Weiteres als Salzsäure in Rechnung bringen, wenn der untersuchte Mageninhalt keine anderen freien Säuren, also insbesondere flüchtige Fettsäuren und Milchsäure, enthält; in letzterem Falle sind dieselben gesondert zu bestimmen und ihre Acidität von der für sämmtliche freien Säuren ermittelten abzuziehen. Leo[1]) verfährt hierbei in der Weise, dass er die Entfernung der flüchtigen Fettsäuren durch Kochen bewerkstelligt und die Milchsäure durch Schütteln mit Aether extrahirt. Es ist fraglich, ob die Entfernung der flüchtigen Fettsäuren durch Wegkochen vollständig gelingt[2]).

Deshalb ist es rathsamer, die flüchtigen Fettsäuren gleichfalls mit Aether zu extrahiren; allerdings erfährt man dann nur die Summe sämmtlicher vorhandenen organischen Säuren.

Ich habe mich bei meinen Versuchen, um das lästige und mit viel Aufwand an Zeit und Aether verbundene Ausschütteln zu umgehen, zur Extraction des von Schwarz[3]) angegebenen Extractionsapparates bedient. Die Extraction mittels des genannten Apparates bietet den Vortheil, dass sie, wenn einmal in Gang gesetzt, keine Arbeit und besondere Aufsicht mehr erfordert; sie geht ziemlich rasch vor sich und ist eine sehr vollständige, der Aetherverbrauch überdies ein geringer. Selbst grössere Mengen Milchsäure (0,4 gr.) gehen bei 18- bis 20-

---

[1]) H. Leo, Diagnostik der Krankheiten der Verdauungsorgane, 1890, S. 114.

[2]) Ein Verlust an Salzsäure beim Kochen der Flüssigkeit ist weniger zu fürchten, da diese bei dem hohen Verdünnungsgrade nicht flüchtig ist.

[3]) Solche Apparate in vereinfachter Construction sind abgebildet bei Drechsel, Anleitung zur Darstellung physiologisch-chemischer Präparate, S. 30, und bei Röhmann, Anleitung zum chem. Arbeiten, S. 69.

stündiger Dauer der Extraction vollständig in den Aether über; die vollständige Entfernung gleicher Mengen von Essigsäure erfolgt noch viel rascher ($4^1/_2$ St.). Handelt es sich um die Entfernung letzterer, oder flüchtiger Säuren überhaupt, so muss natürlich die Vorlage mit etwas Natronlauge beschickt werden; leider lässt sich die vorgelegte Lauge nicht zur Bestimmung der von derselben aufgenommenen Säuremenge verwenden, da beim Erhitzen der Natronlauge mit Aether allein die Alkalescenz der Lauge einer fortwährenden Abnahme unterliegt[1]), es muss daher die Menge der ätherlöslichen Säuren aus dem Aciditätsverluste der extrahirten Flüssigkeit bestimmt werden. Wie ich mich durch eigens darauf gerichtete Versuche überzeugen konnte, ist diese Art der Extraction, obwohl der Aether beim Durchstreichen der Flüssigkeit Wasser aufnimmt, durchaus mit keinem Verlust an Salzsäure verbunden; der Chlorgehalt der vorgelegten Lauge erfährt selbst bei 24stündiger Extraction einer Verdauungssalzsäure keine Zunahme.

Die Methode von Winter.

Winter[2]) wendet zur Analyse des Mageninhaltes folgendes Verfahren an. Es werden drei Proben des zu untersuchenden Mageninhaltes in Arbeit genommen. Die erste wird mit chlorfreier Soda im Ueberschuss versetzt, zur Trockene verdampft, verkohlt und ihr Chlorgehalt durch Titration mit Silbernitrat ermittelt; die zweite Probe wird im Wasserbad zur Trockene verdunstet, dann noch eine Stunde lang auf 100° erhitzt, hierauf mit überschüssiger Soda versetzt und wie die erste weiter behandelt. Die Differenz im Chlorgehalt beider Proben ergibt die Menge der freien Salzsäure. Die

---

[1]) Die Flüssigkeit in der Vorlage färbt sich dabei gelb bis braun. Die Erscheinung hängt wohl mit der Gegenwart von Vinylalkohol im Aether ab, der nach Poleck u. Thümmel (Ber. d. chem. Ges., Bd. 22, S. 2863) ein constanter Bestandtheil des käuflichen Aethers ist.

[2]) G. Hayem et E. Winter, Bulletin médical, No. 95, 1889, et Nos. 8 et 54, 1890. — Hayem et Winter, Du chimisme stomacal, Paris, G. Masson, 1891, p. 72.

dritte Portion wird ohne Zusatz verascht und auch hier wiederum die Chlormenge bestimmt. Der Chlorgehalt der Probe 2 weniger dem Chlorgehalt der Probe 3 ergibt die Menge der an organische Substanzen und an Ammoniak gebundenen Salzsäure.

Die gesammte aus Probe 1 ermittelte Chlormenge weniger dem an anorganische Basen gebundenen Chlor, dessen Quantität in Probe 3 bestimmt wird, würde somit als Maass der physiologisch wirksamen Salzsäure anzusehen sein, doch hebt Winter selbst hervor, dass in dieser Differenz das Chlor des eventuell vorhandenen Chlorammoniums mit inbegriffen ist. Es müsste folglich, falls Chlorammonium gegenwärtig ist, der Werth für die physiologisch wirksame Salzsäure nach dieser Methode zu hoch gefunden werden. Allein das Vorkommen von Chlorammonium im Mageninhalt scheint nach den bisher darüber vorliegenden Angaben ein sehr seltenes zu sein. Wenigstens fand Leo[1]) in der grossen Mehrzahl der darauf untersuchten Fälle keine Spur von Ammoniak im Mageninhalt, und nur in einigen Fällen geringe, kaum in's Gewicht fallende Quantitäten. Auch die C. Schmidt'schen Analysen[2]) von Hundemagensaft ergaben nur einen sehr geringen Procentgehalt an Chlorammonium. Es konnte demnach diese Fehlerquelle der Winter'schen Methode für die meisten Bestimmungen nicht in Betracht kommen.

Die auffällig grossen Differenzen, welche K. Wagner[3]) bei vergleichenden Bestimmungen nach Sjöqvist und Winter zu Ungunsten der ersteren Methode erhielt und die ich nicht allein auf die bei der Bestimmung nach Sjöqvist stattfindenden Verluste (siehe weiter unten) beziehen zu können glaubte, sowie eigene Untersuchungen, wobei ich in Parallelversuchen nach der Winter'schen Methode höhere Werthe erhielt, als nach der von Leo, haben mich veranlasst, auch

---

[1]) H. Leo, Deutsche med. Wochenschrift, No. 41, 1891.

[2]) Bidder u. Schmidt, Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel, 1852, S. 46.

[3]) K. E. Wagner, Archives de Physiol. u. Wratsch, a. a. O.

bei dem Verfahren von Winter nach Fehlerquellen zu forschen. Ich glaube thatsächlich, eine solche in folgendem Verhalten gefunden zu haben.

Wenn man eine Chlorcalciumlösung mit zweifach saurem Phosphat versetzt und erhitzt, so entsteht bekanntlich allmälig ein Niederschlag von einfach saurem oder normalem Calciumphosphat, dessen Auftreten durch die in folgenden Formeln ausgedrückte Umsetzung erklärt werden kann:

$$CaCl_2 + KH_2PO_4 = CaHPO_4 + KCl + HCl$$

und

$$3\,CaCl_2 + 2\,KH_2PO_4 = Ca_3(PO_4)_2 + 2\,KCl + 2\,HCl.$$

Dampft man die Flüssigkeit bis zur Trockene ein, so hat die bei dieser Umsetzung frei werdende Salzsäure Gelegenheit, sich zu verflüchtigen und man muss dann im Rückstande weit weniger Chlor finden, als der ursprünglichen Zusammensetzung der Flüssigkeit entspricht. Dass dies thatsächlich der Fall ist, zeigen folgende Versuche; die Chlorbestimmungen wurden nach der Methode von Volhard ausgeführt.

		Ursprünglicher Chlorgehalt als ClNa.	Nach dem Eindampfen bezw. Veraschen NaCl gefunden.
1	5 cbcm. $CaCl_2$-Lös. entsprech. 142 mgr. NaCl 0,1 gr. KH_2PO_4	142 mgr.	90,0 mgr.
2	5,2 cbcm. $CaCl_2$-Lös. entsprech. 147,7 mgr. NaCl 0,1 gr. KH_2PO_4	147,7 mgr.	90,0 mgr.
3	5 cbcm. $CaCl_2$-Lös. entsprech. 142,0 mgr. NaCl 0,1438 gr. Pepton[1]) enthaltend 5,75 » » 0,1 gr. KH_2PO_4	147,75 mgr.	96,0 mgr.
4	5 cbcm. $CaCl_2$-Lös. entsprech. 142,0 mgr. NaCl 0,2154 gr. Pepton enthaltend 8,6 » » 0,1 gr. KH_2PO_4	150,6 mgr.	110,0 mgr.

[1]) Das verwendete Pepton war chlorhaltig; zwei Chlorbestimmungen ergaben 4,04 und 4,02 % ClNa.

Der gleiche Vorgang muss sich beim Eindampfen und Veraschen des Mageninhaltes abspielen, sobald derselbe zweifach saures Phosphat und zugleich Erdkalichloride enthält; dies ist aber stets der Fall, insbesondere dann, wenn der Untersuchung die Aufnahme einer an den genannten Bestandtheilen reichen Nahrung voranging, so nach der Verabreichung von Weissbrod (Ewald'sches Probefrühstück), dessen Asche viel Kalk und Phosphorsäure enthält, Milch, Fleisch etc. Es wird dann der Chlorgehalt der ohne Zusatz veraschten Probe des Magensaftes zu gering gefunden[1]), und es müssen folglich die durch Subtraction ermittelten Werthe für die an Eiweiss gebundene Salzsäure zu hoch ausfallen.

Von anderer Seite [Bondzinski; Mizerski u. Nencki[2])] wurde darauf aufmerksam gemacht, dass auch die beim Veraschen von Eiweiss auftretende Schwefelsäure einen Verlust an Salzsäure bedingen kann. Nimmt man an, dass die Probeflüssigkeit 1 gr. Eiweiss mit 1 % Schwefel enthalten habe, so würde der Verlust an Salzsäure im Maximum 22,5 mgr. betragen.

Auch die Bestimmung der freien Säure nach der Winter'schen Methode ist keine verlässliche; dieselbe soll, wie schon erwähnt, aus der Differenz im Chlorgehalt vor und nach dem Eindampfen des Mageninhaltes zur Trockene und längerem Erhitzen auf 100° berechnet werden. Allein es scheint, dass das Vertreiben der freien Salzsäure durch Abdampfen nur höchst unvollständig gelingt, wenigstens sind die nach Winter für freie Salzsäure gewonnenen Zahlen erheblich kleiner, wie ich mich durch einige Versuche überzeugt habe, als die mittels der Hoffmann'schen Methode gefundenen, welch' letztere jedenfalls als die richtigen anzusehen sind.

---

[1]) Ich erinnere hier auch daran, dass R. Weber (Pogg. Annalen, Bd. 81, S. 405) durch einen directen Versuch, in welchem er Chlorkalium und Zucker zusammen verkohlte, dargethan hat, dass schon bei der blossen Verkohlung organischer Substanzen ohne Zusatz von Alkalien, selbst wenn man dies bei einer möglichst niedrigen Temperatur vornimmt, Chlor in bedeutender Menge ausgetrieben wird.

[2]) A. Mizerski u. L. Nencki, Archives des sciences biologiques, T. 1, p. 243.

In jüngster Zeit hat J. Lüttke[1]) eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung der Salzsäure im Mageninhalt publicirt; da sich dieselbe jedoch principiell in gar nichts von dem Winter'schen Verfahren unterscheidet, so glaube ich die gegen die Winter'sche Methode erhobenen Bedenken auch gegen jene geltend machen zu müssen.

Die Methode von Sjöqvist.

Die Grundzüge der von Sjöqvist[2]) ausgearbeiteten Methode dürfen wohl als allgemein bekannt vorausgesetzt werden; das Verfahren ermöglicht die quantitative Bestimmung sowohl der freien, als auch der an Eiweiss gebundenen, also der gesammten physiologisch wirksamen Salzsäure, ohne dass organische Säuren die Bestimmung stören. Auch die an Amidosäuren gebundene, nach Salkowski[3]) ebenfalls physiologisch wirksame Salzsäure setzt sich mit Baryumcarbonat um. Das gleiche Verhalten zeigen endlich manche Chlorhydrate eigentlicher organischer Basen, wie das salzsaure Chinin (Salkowski); da der in diesen Salzen gebundenen Säure keinerlei peptische Wirkung zukommt, so würde sich daraus eine Fehlerquelle ergeben. So lange jedoch das Vorkommen derartiger Basen im Mageninhalt nicht nachgewiesen ist, kann dieses Bedenken, wie Salkowski wohl mit Recht hervorhebt, gegen die Methode nicht geltend gemacht werden.

In neuerer Zeit sind noch andere schwerwiegendere Einwände gegen die Anwendbarkeit des Sjöqvist'schen Verfahrens erhoben worden; so haben Leo[4]) und v. Pfungen[5]) dargethan, dass in der Hitze Chlorammonium und auch etwas Chlornatrium durch den überschüssigen kohlensauren Baryt unter Bildung von Chlorbaryum zersetzt werden; der durch das Chlorammonium bewirkte Fehler kann, da dasselbe gar nicht oder nur in sehr geringen Mengen im Mageninhalt vor-

---

[1]) Lüttke, Deutsche med. Wochenschrift, 1891, No. 49, S. 1325.
[2]) Sjöqvist, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 13, S. 1.
[3]) Salkowski, Virchow's Archiv, Bd. 122, S. 235, 1890.
[4]) Leo, Deutsche med. Wochenschrift, 1891, No. 41.
[5]) v. Pfungen, Zeitschrift f. klin. Medicin, Bd. 19, Suppl.

kommt, jedenfalls nicht sehr beträchtlich sein. Auch die aus der Zersetzung des Chlornatriums erwachsende Ungenauigkeit liesse sich nach Leo durch Vermeiden eines Ueberschusses von Baryumcarbonat, beziehungsweise durch Abfiltriren von demselben, hintanhalten.

Von grösster Bedeutung jedoch ist eine andere, gleichfalls von Leo zuerst erkannte Fehlerquelle, welche dem Sjöqvist'schen Verfahren anhaftet und die sich aus den beträchtlichen Verlusten an Salzsäure ergibt, denen man bei der Anwendung der Methode auf phosphorsäurehaltige Flüssigkeiten ausgesetzt ist.

Auch ich bin bei meinen Untersuchungen auf den gleichen Befund gestossen und kann die von Leo gemachten Angaben vollständig bestätigen. So fand ich in einigen Versuchen, in denen eine gleiche Theile Salzsäure und zweifach saures Kaliumphosphat (beide in der Menge von 0,1 %) enthaltende Flüssigkeit der Analyse unterworfen wurde, nur 66,45, 71,33 und 76,41 % der verwendeten Salzsäure wieder.

Waren die Verluste an Salzsäure nur durch die Gegenwart von Phosphaten in der Flüssigkeit bedingt, so konnte man erwarten, dass sich der Fehler nach vorheriger Entfernung der Phosphorsäure werde beheben lassen. Ich habe daher die Sjöqvist'sche Methode dahin zu modificiren versucht, dass die Salzsäure erst, nachdem die Phosphorsäure vollständig ausgefällt worden war, bestimmt werden sollte, und bin zu diesem Zwecke in folgender Weise vorgegangen.

Die zu untersuchende Flüssigkeit wurde mit Barytwasser vollständig ausgefällt und auf ein bestimmtes Volum gebracht, hierauf filtrirt; von dem Filtrat wurde ein abgemessener Theil entweder durch einen Kohlensäurestrom vom überschüssigen Baryt befreit und dann weiter in bekannter Weise behandelt, oder in anderen Versuchen mit Essigsäure neutralisirt, eingedampft und verascht, wobei der überschüssige Baryt ebenfalls als Baryumcarbonat zurückblieb. Die Asche wurde mit heissem Wasser ausgelaugt und der Rückstand chlorfrei gewaschen, in den vereinigten Waschwässern schliesslich das

Chlorbaryum durch Fällung mit Schwefelsäure und Wägung des Baryumsulfats bestimmt.

Aber auch bei dieser Versuchsanordnung machten sich Verluste an Salzsäure geltend und zwar waren die Fehler nicht geringer als bei dem ursprünglichen Sjöqvist'schen Verfahren selbst. Eine Erklärung dieses auffälligen Befundes kann man vielleicht in der Bildung von in Wasser unlöslichen, dem natürlich vorkommenden Apatit analogen Verbindungen von Chlorbaryum und Baryumphosphat suchen, wie sich solche künstlich durch Zusammenschmelzen von normalem Baryumphosphat mit den entsprechenden Chlormetallen darstellen lassen[1]) und für deren Entstehen bei der Ausführung der Sjöqvist'schen Methode genügend Gelegenheit vorhanden ist. Aber auch der in einer salzsäurehaltigen Phosphatlösung durch Barythydrat erzeugte Niederschlag von normalem Baryumphosphat hält vielleicht Chlorbaryum chemisch gebunden zurück, wenigstens scheint dies aus folgendem Umstande hervorzugehen: Wenn man den Baryumphosphatniederschlag auf einem Filter sammelt und mit heissem Wasser bis zum völligen Verschwinden der Chlorreaction wäscht und ihn hierauf in reiner Salpetersäure löst, so erweist sich die Auflösung als chlorhaltig; doch sind die zurückgehaltenen Chlormengen, wenn auch nicht ganz unbeträchtlich, keineswegs so gross, um den gesammten bei der Ausführung der Sjöqvist'schen Methode in der von mir befolgten Abänderung statthabenden Verlust an Salzsäure zu erklären, sondern es muss hierbei noch ein anderer unbekannter Factor mit im Spiele sein.

Wenn ich mich demnach dem Urtheile Leo's anschliessen muss, welcher die Methode von Sjöqvist zur Salzsäurebestimmung im Mageninhalt, der wohl stets phosphorsäurehaltig ist, für ungeeignet erklärt, so bleibt doch andererseits ihre Anwendbarkeit für andere Fälle, bei Abwesenheit von Phosphorsäure z. B. für die Analyse künstlicher Verdauungsflüssigkeiten, unangefochten. Hier gibt das Verfahren ganz genaue Resultate.

---

[1]) Behagel v. Adlerskron, Ztschr. f. anal. Chemie, Bd. 12, S. 412.

Zahlreiche Analysen künstlicher Gemenge, welche nur aus Salzsäure, organischen Säuren und Eiweiss (aschearmem Albumin oder Witte'schem Pepton, dessen Asche keine säurebindenden Salze enthielt) bestanden, lieferten bei Einhaltung gewisser, sofort zu besprechender Vorsichtsmassregeln stets ein gutes Resultat; ich habe solche Analysen selbst ausgeführt, häufig wurden sie auch in unserem Laboratorium von Studirenden übungshalber vorgenommen. Ich theile als Belege von den mir gerade zu Gebot stehenden Zahlen, ohne Auswahl der besten, einige mit:

Die analysirte Flüssigkeit enthielt:	Gefunden	
	$BaSO_4$	HCl
0,1 gr. HCl Pepton Essigsäure	0,3143 gr.	0,09847 gr.
0,1 gr. HCl Pepton Essigsäure	0,3139 gr.	0,09834 gr.
0,04 gr. HCl Pepton	0,1315 gr.	0,0412 gr.
0,055 gr. HCl Essigsäure	0,1775 gr.	0,0556 gr.

Diese Zahlen zeigen zugleich, wie geringfügig der Fehler ist, welcher in die Sjöqvist'sche Methode durch die vermeintliche Reduction des kohlensauren Baryt zu Aetzbaryt, sowie durch die Bildung von Schwefelsäure aus dem Schwefel der Eiweisskörper beim Veraschen eingeführt wird; diese Schwefelsäure wird offenbar vom kohlensauren Baryt gebunden.

Der Baryt wurde hier nicht mittels der von Sjöqvist ursprünglich angegebenen Titration mit Chromat, die wohl als wenig zuverlässig zu betrachten ist, sondern nach dem Vorschlage von Jaksch [1]) durch Fällung mit Schwefelsäure und Wägung des Baryumsulfats bestimmt.

---

[1]) v. Jaksch, Monatshefte f. Chemie, Bd. 10, S. 464.

Ich möchte hier noch auf einen anderen Umstand hinweisen, welcher die Ausführung der Bestimmung manchmal recht schwierig macht. Sehr häufig gelingt das Veraschen des mit $BaCO_3$ versetzten Mageninhaltes nur unvollständig und man braucht dann zum Auswaschen der Kohle, bis das Filtrat chlorfrei abläuft, grosse Quantitäten Waschwasser (ein vollständiges Auswaschen mit nur 50 cbcm. Wasser, wie Sjöqvist verlangt, ist wohl nie zu erreichen). Man darf aber nicht vergessen, dass bei Anwendung von viel Wasser nicht zu vernachlässigende Quantitäten von $BaCO_3$ in Lösung gehen können, was die Genauigkeit des Resultates in Frage stellen würde; auch kommt es nicht selten vor, dass geringe Mengen von Baryumcarbonat das Filter durchwandern. In beiden Fällen lässt sich ein Fehler noch leicht dadurch vermeiden, dass man das Filtrat in einer Platinschale zur Trockene verdampft; jetzt gelingt es, das gebildete Chlorbaryum in einer geringen Quantität Wasser in Lösung zu bringen und vollständig von dem Baryumcarbonat, welches an der Schalenwand haften bleibt, durch nochmalige Filtration zu trennen.

Der oben erwähnte der Methode von Sjöqvist anhaftende Mangel gibt uns theilweise eine Erklärung für die unvollkommene Uebereinstimmung der Resultate, welche verschiedene Beobachter bei der Untersuchung von Mageninhalt nach diesem und noch einem zweiten Verfahren erhalten haben. Ob die bei der Bestimmung nach Sjöqvist unterlaufenden Fehler im Ernstfalle wirklich grosse sind, darüber gestattet mir die geringe Anzahl der von mir untersuchten Magensäfte kein Urtheil. Leo[1]) gibt an, in einer grossen Zahl der Fälle eine vollkommen befriedigende Uebereinstimmung der nach seiner und nach der Sjöqvist'schen Methode gefundenen Zahlen erhalten zu haben.

Die grossen Differenzen, welche K. Wagner bei vergleichenden Bestimmungen nach Winter und Sjöqvist erhielt, lassen sich zur Genüge daraus erklären, dass die Fehlerquelle, welche aus der Anwesenheit von Phosphaten im Mageninhalt entspringt, bei der einen Methode Verluste an Salzsäure bedingt, während bei der anderen, wie oben dargethan (S. 105), aus gleichem Grunde zu viel Salzsäure gefunden wird.

Dass das Hoffmann'sche und Sjöqvist'sche Verfahren keine gleichen Resultate liefern, kann nicht auffallen,

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr., 1891, No. 41.

es wird ja nach dem Verfahren von Hoffmann nur die freie, nach dem von Sjöqvist jedoch die gesammte physiologisch wirksame Salzsäure bestimmt. Eine volle Uebereinstimmung wäre somit nur dann zu erwarten, wenn der untersuchte Mageninhalt nur freie Salzsäure enthielte; zufälligerweise könnte sie auch dann stattfinden, wenn die Differenzen in der Menge der physiologisch wirksamen und der freien Säure durch die bei der Methode von Sjöqvist eintretenden Verluste gerade compensirt würden.

In Kürze sei noch der Methode von Braun[1]) Erwähnung gethan.

Das Verfahren besteht in Folgendem. In einer bestimmten Menge des Mageninhalts wird zunächst mittels Titrirung mit $^1/_{10}$-n.-Natronlauge der Säuregrad bestimmt. Hierauf werden zu einer anderen, gleich grossen Probe Mageninhalts einige Cubikcentimeter $^1/_{10}$-n.-Natronlauge mehr zugefügt, als zur Neutralisation der ersten Probe erforderlich waren. Die alkalische Flüssigkeit wird jetzt in einer Platinschale vorsichtig eingedampft und in unbedeckter Schale verascht. Die Asche wird mit so viel Cubikcentimeter $^1/_{10}$-n.-Säure (Schwefelsäure), als vorher zur Alkalisirung der Probe an Cubikcentimetern $^1/_{10}$-n.-Lauge verbraucht wurde, gelöst, die Lösung zum Verjagen der Kohlensäure erwärmt und dann mit $^1/_{10}$-n.-Natronlauge unter Verwendung von Phenolphtalein als Indicator titrirt. Aus der jetzt verbrauchten Menge Natronlauge berechnet man den Salzsäuregehalt der untersuchten Probe.

Es kann wohl nach diesem Verfahren sowohl die freie als die an Eiweiss gebundene Salzsäure, unbeschadet der Gegenwart organischer Säuren, bestimmt werden; allein es wird hierbei, wie von vorneherein anzunehmen war und wovon ich mich auch durch Versuche überzeugt habe, auch die Acidität des zweifach sauren Phosphats mit bestimmt. Ausserdem kommt noch der Umstand in Betracht, dass bei Gegenwart von Kalksalz die Werthe für die Acidität des zweifach sauren Phosphats höher ausfallen, als es der Ueberführung des zweifach sauren Phosphats in das einfach saure entspräche (s. die Methode von Leo). Daher kommt es, dass

---

[1]) Leube, Specielle Diagnose der inneren Krankheiten, 2. Aufl., Leipzig 1889, S. 234; auch bei Leo, Diagnostik der Krankheiten der Verdauungsorgane, Berlin 1890, S. 113.

bei Bestimmungen nach dieser Methode zu viel Salzsäure gefunden wird.

Aus den geschilderten Versuchen ergeben sich somit für die Beurtheilung des Werthes und der Anwendbarkeit der von mir untersuchten Methoden folgende Schlüsse:

1. Die Methode der quantitativen Salzsäurebestimmung von Hoffmann ermöglicht nur die Bestimmung der freien Salzsäure und gibt hierbei, sowohl in der vom Autor zuerst angegebenen Ausführungsweise (mit Rohrzucker), als auch in der späteren Modification (mit Methylacetat), sehr exacte Resultate; hingegen gibt sie keinen Aufschluss über die Menge der an Eiweiss gebundenen Salzsäure.

2. Die Methode von Winter kann für die Summe der freien und der an organische Bestandtheile gebundenen Salzsäure zu hohe Werthe geben; als hauptsächliche Quelle dieses Fehlers ist der Umstand zu betrachten, dass beim Abdampfen und Veraschen einer Flüssigkeit, welche zweifach saures Phosphat und Chloride der alkalischen Erden enthält, Salzsäure entweicht; die Menge des an Mineralbestandtheile gebundenen Chlors wird zu klein gefunden. Da nun bei der Methode von Winter die Menge der Salzsäure aus der Differenz der gesammten und der an Metall gebundenen Chlormenge ermittelt wird, so muss der Werth für die Salzsäure zu hoch ausfallen.

3. Die Methode von Braun liefert für die Salzsäure zu hohe Werthe, da in der für die Salzsäure ermittelten Aciditätsgrösse zugleich die Acidität des zweifach sauren Phosphats inbegriffen ist.

4. Dagegen ermöglicht es die Methode von Leo, die Menge der physiologisch wirksamen Salzsäure neben zweifach saurem Phosphat mit für klinische Zwecke befriedigender Genauigkeit festzustellen; organische Säuren müssen, falls vorhanden, entfernt werden, was am vortheilhaftesten durch Extraction mit Aether geschieht.

5. Die quantitative Bestimmung der Salzsäure nach Sjöqvist ist bei Gegenwart von Phosphaten mit unvermeid-

lichen Verlusten an Salzsäure verbunden; es ist daher bei Gegenwart von Phosphorsäure von der Anwendung dieser Methode Abstand zu nehmen.

Zum Schlusse möchte ich Herrn Professor v. Jaksch, welcher mir für meine Untersuchungen in liebenswürdigster Weise das Material seiner Klinik zur Verfügung stellte, sowie meinem hochverehrten Chef, Herrn Professor Huppert, für seine freundliche Unterstützung bei meinen Arbeiten auch an dieser Stelle meinen wärmsten Dank aussprechen.

Ueber die maassanalytische Bestimmung der Phenole im Harn.

Von

Dr. A. Kossler,

Assistenten am deutschen med.-chem. Laboratorium in Prag,

und

Dr. E. Penny in Genua.

(Mitgetheilt von Kossler.)

(Aus dem medicinisch-chemischen Laboratorium der k. k. deutschen Universität in Prag.)
(Der Redaction zugegangen am 11. Juni 1892.)

Der gewichtsanalytischen Bestimmung der hauptsächlichen im Harn vorkommenden Phenole, des Phenols und Parakresols, haften bekanntlich einige Mängel an, welche die erlangten Resultate als unsicher erscheinen lassen.

Das Phenol wird durch Bromwasser, je nach der zugesetzten Menge des Reagens, entweder als Tribromphenol oder als Tribromphenolbrom, oder als Gemenge beider Verbindungen gefällt. Der Niederschlag ist in Wasser nicht unlöslich und muss bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet werden. Wenn unter diesen Umständen die Menge des als Tribromphenol in Rechnung gebrachten Niederschlags mit der zur Fällung angewandten Phenolmenge übereinstimmt, wie in den Beleganalysen von Landolt, so kann diese Uebereinstimmung nur einem Zufall zugeschrieben werden.

Noch unsicherer ist die gewichtsanalytische Bestimmung des Parakresols, welches die Hauptmasse der Harnphenole ausmacht. Nach Baumann und Brieger wird dieses ganz allmälig als Tribromkresolbrom gefällt und zersetzt sich letzteres nach und nach unter Abgabe von Kohlensäure zu Tribromphenol; nach Rumpf[1]) dagegen besteht der Niederschlag

---

[1]) Rumpf, diese Zeitschr., Bd. 16, S. 220.

aus Dibromkresol und einem höher gebromten Kresol, welches sich nach einiger Zeit unter Abspaltung von Brom gleichfalls in Dibromkresol verwandelt. Eine Berechnung des Parakresols aus der gewogenen Menge des bromhaltigen Niederschlags kann daher nur ein unsicheres Resultat liefern, auch dann, wenn alles Parakresol gefällt würde, was jedoch, wie wir zeigen werden, nicht der Fall ist.

Diesen Thatsachen gegenüber besitzt der Versuch einer Bestimmung der Phenole des Harns auf maassanalytischem Wege etwas Einladendes. Denn abgesehen davon, dass eine Bestimmung dieser Art voraussichtlich leichter und schneller ausführbar sein würde, als die durch Wägung, könnten auch die Bedenken, welche der Gewichtsanalyse aus der unsicheren Kenntniss der Zusammensetzung der Niederschläge entgegenstehen, leicht dadurch beseitigt werden, dass man den Titer des Reagens auf die reinen Phenole stellte. Es muss dann für die Bestimmung gleichgiltig bleiben, in welche Verbindung die Phenole übergeführt werden. Bei der maassanalytischen Bestimmung ist es ferner ohne Bedeutung, ob eine dabei entstehende Verbindung unlöslich ist oder zum Theil oder auch ganz gelöst bleibt, wenn es nur überhaupt gelingt, den Verbrauch an Reagens für den Nachweis einer gegebenen Menge der Phenole genau festzustellen.

Auf Veranlassung von Prof. Huppert und unter seiner Leitung haben wir nun untersucht, in wie weit sich zur maassanalytischen Bestimmung der Phenole angegebene Methoden auf die Bestimmung der Harnphenole anwenden lassen[1]). Solcher zu einer Prüfung anscheinend tauglichen Methoden liegen zwei vor, die von Koppeschaar, sowie die von Messinger und Vortmann.

Nach dem Verfahren von Koppeschaar[2]) wird das Phenol mit einem Ueberschuss einer Mischung von 1 Mol.

[1]) Ich habe diese Untersuchung in Gemeinschaft mit Dr. Penny begonnen und nach seiner Abreise von Prag allein fortgesetzt.

[2]) W. F. Koppeschaar, Zeitschrift f. analyt. Chemie, Bd. 15, S. 233, 1876.

bromsaurem Alkali und 5 Mol. Bromalkali versetzt und mit Salzsäure angesäuert. Die Salzsäure macht die Bromsäure und den Bromwasserstoff frei, und diese setzen sich dann nach der Gleichung

$$HBrO_3 + 5\,HBr = 3\,Br_2 + 3\,H_2O$$

um. Das frei gewordene Brom führt weiter das Phenol entweder in Tribromphenol über, nach

$$C_6H_5 \cdot OH + 3\,Br_2 = C_6H_2Br_3 \cdot OH + 3\,HBr,$$

oder in Tribromphenolbrom nach

$$C_6H_5 \cdot OH + 4\,Br_2 = C_6H_2Br_3 \cdot OBr + 4\,HBr,$$

oder in ein Gemenge beider Producte. Es kommt nun darauf an, das aus der Lösung verschwundene Brom zu bestimmen; zu diesem Zweck wird der Mischung Jodkalium hinzugefügt, welches sich mit dem Rest des freien Broms zu Bromkalium und Jod umsetzt; das Jod wird in bekannter Weise mit Thiosulphat titrirt.

Ist aus dem Phenol nur Tribromphenol entstanden, so hat dies 6 Atome Brom verbraucht, und aus der Menge des verschwundenen Broms lässt sich dann die Menge des vorhanden gewesenen Phenols berechnen.

Das Tribromphenolbrom dagegen, zu dessen Bildung 8 Atome Brom nöthig sind, liefert, nach Weinreb und Bondi[1]), mit dem Jodkalium nach

$$C_6H_2Br_3 \cdot OBr + 2\,KJ = C_6H_2Br_3 \cdot OK + KBr + J_2$$

wieder Tribromphenol, Bromkalium und Jod, wobei 2 Atome Jod frei werden. Die 2 Atome Brom, welche bei der Bildung von Tribromphenolbrom mehr verbraucht wurden als zur Bildung des Tribromphenols, treten nach der Umsetzung mit Jodkalium als 2 Atome Jod auf, welche mit dem übrigen freien Jod zurücktitrirt werden, so dass auch in diesem Fall 6 Atome Jod (oder Brom) einem Molekül Phenol entsprechen. Die Bildung von Tribromphenolbrom findet also

---

[1]) C. Weinreb u. S. Bondi, Monatshefte für Chemie, Bd. 6, S. 506, 1885.

nur vorübergehend statt und ist für die Bestimmung des Phenols ohne Bedeutung.

Der gewichtsanalytischen Bestimmung gegenüber besitzt dieses Verfahren den Vorzug, dass die Bildung von Tribromphenolbrom keinen Mehrverbrauch an Brom nach sich zieht, da sich das Tribromphenolbrom mit dem behufs Zurücktitriren des Bromüberschusses zugefügten Jodkalium, wie soeben bemerkt, in Tribromphenol, Bromkalium und Jod umsetzt, und dieses Jod gleichfalls zurücktitrirt wird. Dazu kommt noch, dass bei der Titrirung die nach Baumann und Brieger stattfindende Umwandlung des Tribromkresols zu Tribromphenol nicht abgewartet zu werden braucht, da beide Phenole auf das Molekül gleich viel Brom aufnehmen. Endlich ist die Löslichkeit des Tribromphenols belanglos.

Im Gegensatz zu Koppeschaar titriren Messinger und Vortmann das Phenol mit Jod. Sie gründen dies Verfahren auf die von ihnen beobachtete Thatsache, dass eine auf 50—60° erwärmte alkalische Phenollösung auf Zusatz eines gehörigen Ueberschusses von Jod (8 At. Jod auf 1 Mol. Phenol und 4 Mol. Kaliumhydrat) einen dunkelrothen nicht krystallinischen Niederschlag von der Zusammensetzung des Trijodphenols gibt[1]). Für die quantitative Bestimmung schreiben diese Autoren[2]) folgendes Verfahren vor.

Es werden 2—3 gr. Phenol in Natron gelöst, so dass auf 1 Molekül Phenol mindestens 3 Moleküle Natron kommen. Die Lösung wird auf 250 oder 500 cbcm. verdünnt; von dieser Lösung werden 5 oder 10 cbcm. in ein Kölbchen gebracht, auf circa 60° erwärmt und mit $^1/_{10}$-n.-Jodlösung im Ueberschuss versetzt. Nach dem Erkalten wird mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, auf 250 oder 500 cbcm. verdünnt, ein bestimmter Theil (100 cbcm.) abfiltrirt und das überschüssige Jod mit $^1/_{10}$-n.-Natriumthiosulphat zurücktitrirt. 6 Atome verbrauchtes Jod zeigen 1 Molekül Phenol an.

---

[1]) J. Messinger u. G. Vortmann, Ber. d. chem. Gesellsch., Bd. 22, S. 2313, 1889.

[2]) Berichte, Bd. 23, S. 2753, 1890.

Die Reaction verläuft in folgender Weise. Das Jod liefert zuerst mit der Natronlauge unterjodigsaures Natron und Jodnatrium, nach

$$2\,NaOH + J_2 = NaOJ + NaJ + H_2O,$$

und darauf das unterjodigsaure Salz mit dem Phenol, Trijodphenol und Natriumhydrat nach

$$C_6H_5 \cdot OH + 3\,NaOJ = C_6H_2J_3 \cdot OH + 3\,NaOH.$$

Da die 3 Moleküle Hypojodit aus 6 Atomen Jod hervorgegangen sind, so entspricht die Bildung des Trijodphenols einem Verbrauch von 6 Atomen Jod, was sich mit Umgehung der Zwischenreaction ausdrücken liesse durch die Gleichung

$$C_6H_5 \cdot OH + 3\,J_2 = C_6H_2J_3 \cdot OH + 3\,HJ.$$

Wird die Flüssigkeit nach Ablauf der Reaction angesäuert, so liefert der Rest des nicht verbrauchten Hypojodits mit dem (nun im Ueberschuss vorhandenen) Jodnatrium nach

$$NaOJ + NaJ + H_2SO_4 = J_2 + Na_2SO_4 + H_2O$$

wieder Jod, und zwar auf 1 Molekül 2 Atome Jod, so viel, als zur Bildung des Hypojodits nöthig waren. Man findet also das ganze unverbrauchte Jod wieder.

Von diesen beiden Verfahrungsweisen haben wir zunächst das letzterwähnte einer näheren Betrachtung unterworfen.

1. Verfahren von Messinger und Vortmann.

Die Resultate, welche Messinger und Vortmann nach ihrer Methode erhielten, waren sehr befriedigende. Aber Messinger und Vortmann gingen bei der Ausführung der Beleganalysen für ihr Verfahren von bekannten Mengen Phenol aus und konnten auf diese Art stets den Zusatz des Natronhydrats und des Jods in einem nach ihnen für die Titration möglichst günstigen Verhältniss zur angewandten Phenolmenge wählen (auf 1 Molekül Phenol mindestens 3 Moleküle Natron). Bei Bestimmungen im Ernstfalle dagegen, in welchem man natürlich nicht in dieser vortheilhaften Lage ist, wird man dementsprechend häufig, um sicher zu gehen, einen relativ grossen Ueberschuss der für die Bestimmung nöthigen Reagentien anwenden müssen. Aus den Angaben der genannten Autoren

geht aber nicht hervor, ob es für das Resultat der Titration gleichgiltig sei, wenn letztere Bedingung eintritt.

Auf diese Verhältnisse hatten wir daher vor Allem unser Augenmerk zu richten, als wir es unternahmen, die Anwendbarkeit der Titration mit Jod für den Harn zu prüfen; ausserdem hatten wir zu untersuchen, ob auch das Parakresol ein gleiches Verhalten dem Jod gegenüber zeige und sich demnach auf diese Weise quantitativ bestimmen lasse.

A. Versuche mit Phenol.

Es erschien uns zweckmässig, die Titration mit Jod in etwas anderer Weise auszuführen, als Messinger und Vortmann vorschreiben. Vor Allem war es wünschenswerth, die Trennung des Niederschlags von der Flüssigkeit durch Filtration zu vermeiden, denn es finden hierbei, auch wenn die Filtration rasch, etwa durch Glaswolle, bewerkstelligt wird, immer Verluste an Jod statt, die nicht zu vernachlässigen sind. Es war daher nachzusehen, ob man nicht auch genaue Resultate bekommt, wenn das überschüssige Jod in Gegenwart des Trijodphenols zurücktitrirt wird. Wir haben uns nach dem unten beschriebenen Verfahren überzeugt, dass dies in der That der Fall ist. Es setzt sich weder das Trijodphenol mit Natriumthiosulphat um, jedenfalls nicht in der kurzen, für die Titration erforderlichen Zeit, noch bietet die rothe Farbe des Niederschlags für die Erkennung der Endreaction irgendwelche Schwierigkeit, da die violettrothe Färbung, welche das Roth des sich langsam absetzenden Niederschlags und die Blaufärbung der Jodstärke erzeugen, scharf nach Roth umschlägt, sobald die letzte Spur freien Jods aus der Flüssigkeit beseitigt ist.

Wir führten unsere Versuche in folgender Weise aus.

Die auf ihren Phenolgehalt zu untersuchende Flüssigkeit wurde in ein Kölbchen mit gut eingeschliffenem Glasstopfen gebracht, mit nitritfreier Natronlauge versetzt und dann behufs Erwärmen auf etwa 60° C. längere Zeit in ein heisses Wasserbad gebracht; zur heissen Flüssigkeit wurde $^1/_{10}$-n.-Jodlösung in gewünschter Menge zufliessen gelassen und das Kölbchen

rasch geschlossen. Das Kölbchen füllt sich bei Ueberschuss von Jod mit Joddampf, der sich in den kälteren Theilen des Gefässes condensirt. Nach dem Erkalten löst man das sublimirte Jod wieder in der Flüssigkeit durch Umschütteln, säuert mit verdünnter Schwefelsäure oder mit Salzsäure an und titrirt den Jodüberschuss unter Verwendung von Stärkekleister als Indicator mit $^1/_{10}$-n.-Natriumthiosulphatlösung zurück.

Die Jodlösung wurde auf eine $^1/_{10}$-n.-Lösung von arseniger Säure, die Thiosulphatlösung auf die Jodlösung gestellt und der Titer dieser Lösungen häufig controllirt. Die Phenollösung war durch Wägen von reinem über Schwefelsäure getrockneten Phenol bereitet und enthielt in einem Cubikcentimeter genau 3 mgr. Phenol.

In dieser Weise wurde eine Reihe von Versuchen ausgeführt, welche uns darüber belehren sollten, in wie weit die Resultate der Titration abhängig sind von der Gegenwart eines grösseren Ueberschusses von unterjodigsaurem Alkali einerseits, oder von der Anwesenheit grösserer Mengen von freiem Jod andererseits. Zu diesen Versuchen wurden immer 5 cbcm. der Phenollösung, also 15 mgr. Phenol verwendet; diese verlangen zur völligen Ueberführung in Trijodphenol 9,57 cbcm. $^1/_{10}$-n.-Jodlösung. Wir theilen in Tabelle I zunächst die Resultate einer Versuchsreihe mit, in welcher das Verhältniss des unterjodigsauren Natrons zum Phenol weit über das von Messinger und Vortmann angegebene Minimum gesteigert wurde bei stets gleichbleibendem Ueberschuss an freiem Jod (15 cbcm. $^1/_{10}$-n.-Jodlösung oder auf 1 Mol. Phenol 9,4 Atome Jod).

Zur Tabelle ist noch Folgendes zu bemerken: Wenn auf 1 Molekül Phenol 3 Moleküle Natronhydrat zugesetzt werden sollen, so verlangen die angewandten 15 mgr. Phenol 4,787 cbcm. $^1/_{10}$-n.-Natronhydrat; wir haben dieses Volumen auf 5 cbcm. abgerundet und diese entsprechen auf 1 Molekül Phenol 3,1334 Molekül NaOH. Ebenso sind 5 cbcm. $^1/_{10}$-n.-Jod, auf 15 mgr. Phenol = 3,1334 Atome Jod.

Mischt man Natriumhydrat mit mindestens der äquivalenten Menge Jod, so tritt die Hälfte des Natrons als unterjodigsaures Salz auf. Das Phenol kann sich auch mit dem Natrium des Natriumhydrats verbinden. Da aber in dem vorliegenden Fall das Jod im Ueberschuss war, so nehme ich für die Rechnung an, dass von dem Phenol kein Natrium der Umsetzung zu Hypojodit entzogen war.

Tabelle I.

	Phenol angewandt. mgr.	$^{1}/_{10}$-n.-NaOH. cbcm.	$^{1}/_{10}$-n.-Jod. cbcm.	Auf 1 Mol. Phenol kommen Mol. NaOH.	Mol. NaOJ.	$^{1}/_{10}$-n.-Jod verbraucht. cbcm.	Mittel. cbcm.	Phenol gefunden. mgr.
1	15	5	20	3,1334	1,57	9,0 / 9,0	9,0	14,10
2	15	10	25	6,277	3,13	9,5 / 9,5	9,5	14,88
3	15	15	30	9,400	4,70	9,75 / 9,75	9,75	15,27
4	15	20	35	12,534	6,27	9,7 / 9,7	9,7	15,19
5	15	25	40	15,667	7,83	9,65 / 9,75	9,7	15,19
6	15	30	45	18,800	9,40	9,75 / 9,85	9,8	15,35
7	15	35	50	21,934	10,97	9,8 / 9,8	9,8	15,35
8	15	40	55	25,067	12,53	9,85	—	15,43

Aus den angeführten Zahlen ergibt sich in Bezug auf die aufgeworfene Frage, dass ein Zusatz von 3,13 Molekülen Natronhydrat auf 1 Molekül Phenol zur völligen Ueberführung des Phenols in Trijodphenol ungenügend ist, dass ferner eine Steigerung des Natronzusatzes auf 6,27 Moleküle ein besseres Resultat liefert, und dass endlich bei Gegenwart von 9,4 Molekülen und mehr Natriumhydrat auf 1 Molekül Phenol, immer in Gegenwart von freiem Jod, das Maximum der Jodwirkung erreicht wird. Wenn, wie angenommen, bei Anwesenheit von freiem Jod kein Natron an das Phenol (oder Trijodphenol) gebunden bleibt, und somit immer das halbe Molekül des zugesetzten Natriumhydrats als unterjodigsaures Salz aufgetreten wäre, so würden 3,13 Moleküle Hypojodit auf 1 Molekül Phenol noch nicht ganz zur Bildung von Trijodphenol ausreichen. Unter den für die Reaction günstigsten Verhältnissen

des Versuchs ist der Jodverbrauch ein etwas, und zwar bis zu 3% grösserer, als der Bildung des Trijodphenols entspricht, und es kann somit bis zu dieser Grösse zu viel Phenol gefunden werden.

Messinger und Vortmann erhielten bei Verwendung von nur 4 Molekülen Natriumhydrat = 2 Mol. NaOJ auf 1 Molekül Phenol zur Theorie besser stimmende Resultate als wir. Diesen Unterschied in den beiderlei Befunden glauben wir aber aus dem Umstand erklären zu können, das Messinger und Vortmann das ausgefallene Trijodphenol von der Flüssigkeit abfiltrirten und das überschüssige Jod im Filtrat bestimmten, während wir die Filtration unterliessen. Bei der Filtration verdunstet Jod. Messinger und Vortmann haben daher um so viel weniger Jod zurücktitrirt und das beim Filtriren verdampfte und das nicht wieder gefundene überschüssige Jod als zur Bildung von Trijodphenol mit verbraucht berechnet.

In den vorstehenden Versuchen war neben unterjodigsaurem Natron gleich viel freies Jod vorhanden. Wir schliessen an diese eine andere Versuchsreihe an, welche wir anstellten, um uns über die Abhängigkeit der Resultate von der Menge des freien Jods zu unterrichten und zugleich zu ermitteln, ob ein Ueberschuss an freiem Jod überhaupt nothwendig sei oder ob die Gegenwart von unterjodigsaurem Alkali allein zur quantitativen Ueberführung des Phenols in Trijodphenol genüge. Auf 1 Molekül Phenol waren immer mehr, in den meisten Fällen sogar erheblich mehr als 3 Moleküle NaOJ vorhanden, also auf jeden Fall genug, wenn die Bildung des Trijodphenols nur durch das unterjodigsaure Natron erfolgte; dagegen war nicht in allen Versuchen freies Jod zugegen.

Aus diesen Versuchen, deren Resultate in Tabelle II auf folgender Seite mitgetheilt sind, geht hervor, dass die Gegenwart von freiem Jod für das Gelingen der Bestimmung von Bedeutung ist, denn man sieht, dass in den vier letzten Versuchen, bei welchen sämmtliches Jod an Alkali gebunden war, die Werthe der verbrauchten Jodmengen beträchtlich hinter den berech-

Tabelle II.

	Phenol angewandt. mgr.	$^1/_{10}$-n.-NaOH. cbcm.	$^1/_{10}$-n.-Jod. cbcm.	Auf 1 Mol. Phenol kommen Mol. NaOJ.	$^1/_{10}$-n.-Jod frei. cbcm.	$^1/_{10}$-n.-Jod verbraucht. cbcm.	Mittel. cbcm.	Phenol gefunden. mgr.
1	15	15	40	4,70	25	9,55 9,75	9,65	15,11
2	15	15	30	4,70	15	9,75 9,75	9,75	15,27
3	15	15	25	4,70	10	9,7 9,7	9,6	15,03
4	15	15	20	4,70	5	9,7 9,65	9,675	15,14
5	15	15	15	4,70	—	9,45 9,45	9,45	14,80
6	15	15	12	3,76	—	8,1 8,3	8,2	12,84
7	15	40	35	10,97	—	9,3 9,2	9,25	14,41
8	15	40	30	9,4	—	8,45 8,35	8,4	13,00

neten zurückbleiben, selbst dann, wenn sich das unterjodigsaure Natron in grossem Ueberschuss vorfand. Der geringste Ueberschuss an Jod betrug (in Versuch 4) auf 15 mgr. Phenol 5 cbcm. $^1/_{10}$-n.-Jodlösung. Mit diesem Verhältniss dürfte der nothwendige Ueberschuss an freiem Jod bemessen sein; ein grösserer Ueberschuss an freiem Jod beeinträchtigt das Gelingen der Bestimmung jedoch, wie man sieht, in keinerlei Weise.

Als Bedingungen für die vollständige Ueberführung des Phenols in Trijodphenol ergibt sich also die Gegenwart von etwas über 3 Moleküle unterjodigsaurem Natron auf 1 Molekül Phenol und die Gegenwart von freiem Jod (5 cbcm. $^1/_{10}$-n.-Jodlösung).

Hinzuzufügen ist noch, dass die Reaction in der Wärme vorzunehmen ist. Zwar findet auch bei gewöhnlicher Temperatur eine Reaction statt, aber sie verläuft sehr langsam, der Jodverbrauch nimmt immer mehr zu und das Ende des Versuchs lässt sich, für den beabsichtigten praktischen Zweck, nicht abwarten.

B. Versuche mit Parakresol.

Das Parakresol zeigt bei der Behandlung mit Jod in alkalischer Lösung ein dem Phenol gleiches Verhalten; es tritt beim Versetzen einer heissen alkalischen Lösung von Parakresol mit überschüssigem Jod zunächst in der Flüssigkeit eine Trübung auf, welche nach dem Erkalten und Ansäuern der Flüssigkeit bedeutend an Menge zunimmt und sich nach dem Zurücktitriren des freien Jods als von einem schmutzig-gelblichen Niederschlag herrührend erweist. Quantitative Untersuchungen gaben uns Aufschluss darüber, welche Zusammensetzung dem gebildeten Körper zukommt, und zeigten zugleich, dass die angeführte Reaction sich zur Bestimmung des Parakresols verwenden lasse.

Wir benützten hierfür eine Parakresollösung mit genau 3 mgr. im Cubikcentimeter. Das Parakresol war durch Destillation im CO_2-Strome gereinigt und hierauf über Schwefelsäure getrocknet worden. Es schmolz dann bei 34,7—34,8°, war also als rein zu betrachten.

Die Versuche wurden genau so ausgeführt, wie beim Phenol. Auch beim Parakresol zieht sich die Reaction in der Kälte so in die Länge, dass sich die quantitative Bestimmung des Jodverbrauches nicht ausführen lässt, weshalb auch in den folgenden Versuchsreihen die Reaction durch Anwendung einer höheren Temperatur beschleunigt wurde.

Nachstehende Tabellen enthalten die gewonnenen Resultate.

Tabelle III.

	Kresol angewandt. mgr.	$^1/_{10}$-n.-NaOH. cbcm.	$^1/_{10}$-n.-Jod. cbcm.	Auf 1 Mol. Kresol kommen Mol. NaOJ.	$^1/_{10}$-n.-Jod frei. cbcm.	$^1/_{10}$-n.-Jod verbraucht. cbcm.	Mittel. cbcm.	Kresol gefunden [1]. mgr.
1	15	5	20	1,8	15	7,1	—	12,79
2	15	10	25	3,6	15	{ 7,8 / 7,7 }	7,75	13,96
3	15	15	30	5,4	15	{ 8,1 / 8,3 }	8,2	14,77
4	15	20	35	7,2	15	{ 8,3 / 8,7 }	8,5	15,3
5	15	25	40	9,0	15	{ 8,6 / 8,6 }	8,6	15,49
6	15	30	45	10,8	15	{ 8,8 / 8,5 }	8,65	15,58

Tabelle IV.

	Kresol angewandt. mgr.	$^1/_{10}$-n.-NaOH. cbcm.	$^1/_{10}$-n.-Jod. cbcm.	Auf 1 Mol. Kresol kommen Mol. NaOJ.	$^1/_{10}$-n.-Jod frei. cbcm.	$^1/_{10}$-n.-Jod verbraucht. cbcm.	Mittel. cbcm.	Kresol gefunden [1]. mgr.
1	15	15	20	5,4	5	{ 8,05 / 8,05 }	8,05	14,5
2	15	15	25	5,4	10	8,15	—	14,68
3	15	15	30	5,4	15	{ 8,1 / 8,3 }	8,2	14,77
4	15	15	40	5,4	25	{ 8,1 / 8,1 }	8,1	14,6
5	15	20	30	7,2	10	{ 8,13 / 8,33 }	8,23	14.82
6	15	20	35	7,2	15	{ 8,3 / 8,7 }	8,5	15,3
7	15	25	40	9,0	15	{ 8,6 / 8,6 }	8,6	15,49
8	15	25	45	9,0	20	{ 8,6 / 8,4 }	8,5	15,3
9	15	25	55	9,0	30	{ 8,55 / 8,45 }	8,5	15,3

[1]) Die Berechnung der in dieser Columne stehenden Zahlen geschah auf Grund der weiter unten begründeten Annahme, dass das bei der Reaction gebildete Product die Zusammensetzung des Trijodkresols habe.

In Tabelle III sind Versuche angeführt, in welchen bei einem gleichbleibenden Ueberschuss an freiem Jod (15 cbcm., oder, auf 15 mgr. Kresol bezogen, 10,8 Atome Jod) die Menge des unterjodigsauren Natrons verschieden ist. Aus den angeführten Zahlen ist ersichtlich, dass der Verbrauch an Jod mit der Menge des vorhandenen Hypojodits zunimmt bis zu einer oberen Grenze, welche bei 7,2 Molekülen Hypojodit auf 1 Molekül Kresol erreicht zu sein scheint.

Tabelle IV zeigt, dass bei einer unzureichenden Menge von Hypojodit (5,4 Moleküle NaOJ auf 1 Molekül Kresol) der Verbrauch an Jod auch durch einen grösseren Ueberschuss an freiem Jod (25 cbcm. statt 15 cbcm.) nicht erhöht wird; dass ferner bei einer genügenden Menge von Hypojodit (7,2 Moleküle) eine geringere Menge als 15 cbcm. freies Jod den Jodverbrauch vermindert, und dass endlich auch ein sehr grosser Ueberschuss an freiem Jod (20 und 30 cbcm.) bei einer mehr als hinlänglichen Menge von Hypojodit (9,0 Moleküle) den Jodverbrauch nicht über das Maximum steigert.

Man erhält also bei der titrimetrischen Bestimmung des Kresols constante Resultate, wenn auf 1 Mol. Kresol mehr als 7 Mol. Hypojodit und mindestens 15 cbcm. $^1/_{10}$-n.-Jodlösung als freies Jod angewendet werden.

Die unter den günstigsten Versuchsbedingungen für das verbrauchte Jod erhaltenen Zahlen stimmen überein mit der Annahme, dass das aus Kresol entstandene Product Trijodphenol ist. In diesem Falle müssten für 15 mgr. Kresol 8,33 cbcm. $^1/_{10}$-n.-Jodlösung verbraucht worden sein, während der Versuch 8,5 cbcm. ergeben hat. Berechnet man aus dem verbrauchten Jod die Menge des bei der Reaction betheiligten Kresols, so findet man 2 % zu viel[1]).

---

[1]) Messinger u. Vortmann (Berichte d. chem. Gesellsch., Bd. 22, S. 2315) haben in den zwei einzigen von ihnen angestellten Versuchen gefunden, dass unter den von ihnen gewählten Versuchsbedingungen auf 1 Molekül Parakresol 5,10 und 5,08 Atome Jod verbraucht werden statt der 6 zur Bildung von Trijodkresol erforderlichen Atome Jod.

Das Verfahren ist also zur Bestimmung des Parakresols ebenso gut geeignet wie zur Bestimmung des Phenols. Doch weichen die Bestimmungen bei den einzelnen Paaren beim Kresol weiter von einander ab, als die beim Phenol, und dürften demnach die Kresolbestimmungen bei nicht sehr sorgfältiger Arbeit weniger genau ausfallen als die des Phenols.

Selbstverständlich lässt sich die Titration mit Jod auch gleich gut zur quantitativen Bestimmung eines Gemenges von Phenol und Kresol anwenden; man erfährt hierbei jedoch natürlich nur die Summe der von beiden gebundenen Jodmengen, ohne einen Einblick in die wechselseitigen Mengenverhältnisse beider Körper zu gewinnen.

2. Verfahren von Koppeschaar.

Koppeschaar hat sein Verfahren nur zur Bestimmung des Phenols eingerichtet. Uns scheint es nun wünschenswerth, zu untersuchen, ob und unter welchen Umständen es sich auf die Bestimmung des Parakresols anwenden lasse.

Zu diesen Versuchen diente uns dasselbe Parakresol, wie bei denen nach Messinger und Vortmann. Die Bromatlösung entsprach einer $^1/_{10}$-n.-Bromlösung und war auf eine $^1/_{10}$-n.-Lösung von arseniger Säure gestellt. Zurücktitrirt wurde mit $^1/_{10}$-n.-Thiosulphat.

Für die Bestimmung des Phenols lässt Koppeschaar die Bromatlösung in der Kälte einwirken und titrirt das überschüssige Brom schon nach einer Viertelstunde zurück. Bei Verwendung von Parakresol statt Phenol haben wir nun folgende Wahrnehmungen gemacht.

A. Versuche mit Parakresol.

Beim Versetzen mit der Koppeschaar'schen Bromatlösung und Säure scheidet eine Kresollösung alsbald einen voluminösen, weissen Niederschlag in Flocken ab. Wenn man nach einiger Zeit, etwa einer halben Stunde, Jodkalium hinzufügt, in welchem sich der Niederschlag fast vollständig auflöst, und zurücktitrirt, so findet man erheblich weniger Brom verbraucht, als es der Fall sein müsste, wenn alles Kresol zu Tribromkresol geworden wäre. Lässt man dagegen die mit Brom versetzte Kresol-

lösung vor dem Zusatze des Jodkaliums noch längere Zeit als eine halbe Stunde stehen unter Vorkehrungen, welche ein Entweichen von Brom verhüten, so bemerkt man, dass der Bromverbrauch ein grösserer wird. Nach 24 Stunden ist etwa so viel Brom gebunden worden, als der Bildung von Tribromkresol entspricht, doch ist hiermit die Reaction noch keineswegs zu Ende. Der Bromverbrauch wächst bei längerer Dauer des Versuches noch an, bis er nach circa 90 Stunden das Maximum erreicht; es sind jetzt pro Molekül Kresol 4 Atome Brom gebunden worden.

Die Zahlen der folgenden Tabelle liefern hierfür Belege.

Tabelle V.

	Kresol angewandt.	$^1/_{10}$-n.-Brom.	Zurücktitrirt nach	$^1/_{10}$-n.-Brom verbraucht.	Mittel.
1	15 mgr.	20 cbcm.	$^1/_2$ Stunde	6,02 cbcm. 6,02 »	6,02 cbcm.
2	15 »	20 »	12 Stunden	8,03 » 7,93 »	7,98 »
3	15 »	30 »	12 »	7,98 » 8,03 »	8,01 »
4	15 »	10 »	20 »	8,25 » 8,15 »	8,20 »
5	15 »	20 »	24 »	8,37 » 8,37 »	8,37 »
6	15 »	30 »	36 »	9,25 » 9,11 »	9,18 »
7	15 »	10 »	44 »	9,3 » 9,5 »	9,40 »
8	15 »	20 »	40 »	9,4 » 9,4 »	9,40 »
9	15 »	20 »	90 »	11,03 » 11,56 »	11,30 »
10	15 »	20 »	114 »	11,46 » 11,12 »	11,29 »

15 mgr. Kresol verbrauchen nach der Rechnung zur Bildung von Tribromkresol 8,33 cbcm. $^1/_{10}$-n.-Brom, zur Bildung von Tetrabromkresol 11,11 cbcm. $^1/_{10}$-n.-Brom.

Die Reaction zwischen Brom und Kresol, welche in der Kälte geraume Zeit in Anspruch nimmt, lässt sich durch Anwendung höherer Temperaturen beschleunigen. Wenn man den Versuch so anstellt, dass man in einer mit gut eingeschliffenem Glasstöpsel versehenen Flasche eine entsprechende Menge Wasser durch längeres Eintauchen in ein Wasserbad erhitzt, zu dem heissen Wasser die erforderlichen Quantitäten Kresol- und Bromatlösung sowie Säure zufliessen lässt, rasch die Flasche schliesst und nach dem Erkalten titrirt, so zeigt sich, dass so viel Brom gebunden wurde, als zur Ueberführung des Kresols in Tetrabromkresols nöthig ist; doch ist zur Erreichung dieses Resultats die Anwendung eines starken Ueberschusses der Bromatlösung erforderlich, wie aus den Beispielen der Tabelle VI ersehen werden kann.

Tabelle VI.

Kresol.	$^1/_{10}$-n.-Brom.	$^1/_{10}$-n.-Brom verbraucht.	Mittel.
15 mgr.	25 cbcm.	11,3 cbcm. 11,4 »	11,35 cbcm.
15 »	30 »	11,3 » 10,9 »	11,10 »
15 »	35 »	11,05 » 11,10 »	11,07 »

Für die Bestimmung des Kresols mit der Koppeschaar-schen Bromatlösung wird man die Reaction also in der Wärme vorzunehmen haben. Die Bestimmung ist nicht absolut genau, weil nach dem Zurücktitriren des freien Jods die Flüssigkeit noch nachbläut, was wohl hauptsächlich darin seinen Grund hat, dass die Reaction zwischen der Bromsäure und dem Jodwasserstoff, worauf das Auftreten des freien Jods beruht, nur sehr langsam zu Ende geht. Eine solche Nachbläuung haben aber Weinreb und Bondi auch bei der Einwirkung von Jodkalium auf Tribromphenolbrom in der Kälte wahrgenommen.

B. Versuche mit Phenol.

Soll dieses abgeänderte Koppeschaar'sche Verfahren auf die Bestimmung der Harnphenole angewendet werden, so muss vorher noch das Verhalten des Phenols gegen die Bromatlösung bei höherer Temperatur bekannt sein. In dieser Hinsicht war Zweierlei zu erwarten. Entweder gibt das Phenol gleichfalls ein vierfach bromirtes Product, wie das Parakresol, und dann wäre das abgeänderte Koppeschaar'sche Verfahren zur Bestimmung der Harnphenole in demselben Maasse verwendbar, wie das Verfahren von Messinger und Vortmann. Oder das Phenol könnte blos ein Tribromphenol liefern und dann liessen sich durch Titriren des Gemisches beider Harnphenole mit Bromatlösung und mit Jod beide Phenole neben einander bestimmen.

Meine in dieser Richtung mit Phenol unternommenen Versuche führten jedoch zu einem völlig negativen Resultat. Auch das Phenol bindet in der Wärme bedeutend grössere Mengen Brom als in der Kälte. Die Bestimmungen dieser Werthe sind zwar ziemlich wechselnd ausgefallen und stehen die letzteren in keinerlei Aequivalentverhältniss zu den angewendeten Phenolmengen, aber so viel ergibt sich aus ihnen doch, wie Tabelle VII zeigt, dass die verbrauchten Brommengen noch grösser sind als die zur Bildung eines Tetrabromphenols erforderlichen.

Tabelle VII.

Phenol angewandt.	1/10-n.-Brom	
	angewandt.	verbraucht.
15 mgr.	15 cbcm.	13,50 cbcm.
15 »	20 »	13,65 »
15 »	30 »	14,15 »
15 »	40 »	15,10 »

15 mgr. Phenol brauchen zur Bildung von Tribromphenol 9,57 cbcm., zur Bildung von Tetrabromphenol 12,76 cbcm. und zur Bildung eines Pentabromphenols 15,96 cbcm. 1/10-n.-Bromatlösung.

Es lässt sich also weder das Phenol in Gegenwart von Kresol nach der ursprünglichen Methode von Koppeschaar (Titration in der Kälte), noch das Kresol neben Phenol durch das abgeänderte Verfahren (Titration in der Wärme) mit hinreichender Genauigkeit bestimmen. Auch wenn man von den relativ geringen Mengen des neben dem Kresol in den Harnphenolen vorkommenden Phenols absehen wollte, würde die Titration des Kresols nach Koppeschaar in der Wärme nicht zu ganz richtigen Resultaten führen.

Dagegen lässt sich die Methode von Messinger und Vortmann für den gedachten Zweck mit gutem Erfolge benützen. Wie man dabei zu verfahren hat, ist in dem folgenden Abschnitt aus einander gesetzt.

3. Bestimmung der Harnphenole durch Titriren mit Jod.

Zum Zweck der quantitativen Bestimmung müssen die Phenole, welche im Harn bekanntlich nicht als solche, sondern in Form ihrer Aetherschwefelsäuren vorkommen, aus diesen Verbindungen durch Erhitzen mit einer Mineralsäure frei gemacht und aus dem Harn abdestillirt werden. Es ist ferner von vorherein klar, dass, wenn die Bestimmung richtig ausfallen soll, ausserdem zweien Bedingungen Genüge geleistet werden müsse: es müssen erstens die Phenole vollständig aus dem Harn abdestillirt werden, und zweitens darf das Harndestillat keinerlei Substanzen enthalten, denen entweder die Eigenschaft Jod zu binden zukommt, oder welche aus Jodkalium Jod in Freiheit zu setzen vermögen; als Repräsentanten der ersten Gruppe kommen hauptsächlich das Aceton, das Ammoniak und, nach meinen Versuchen, die Ameisensäure, aber nicht die Essigsäure, als Repräsentant der letzteren die salpetrige Säure in Betracht.

Des Acetons entledigt man sich leicht dadurch, dass man den Harn, bevor man zur Destillation schreitet, bei alkalischer Reaction auf ein kleines Volumen eindampft; versetzt man hierauf den eingeengten Harn mit so viel Schwefelsäure, dass auf die ursprüngliche Harnmenge 5 % kommen, um

die Aetherschwefelsäuren zu zerlegen, so reicht diese Säuremenge hin, um auch alles Ammoniak zurückzuhalten. Der Uebergang der salpetrigen Säure und der Ameisensäure in das Destillat lässt sich dagegen nicht verhindern, wenn diese beiden Säuren überhaupt im nativen Harn vorhanden waren.

Von diesen Säuren lässt sich das Harndestillat befreien, wenn man es mit einem Ueberschuss von Calciumcarbonat der nochmaligen Destillation unterwirft. Die Säuren werden vom Calciumcarbonat gebunden, das Phenol und das Kresol dagegen nicht.

Das vollständige Abdestilliren des Phenols aus dem Harn hat erhebliche Schwierigkeiten und nimmt längere Zeit in Anspruch. Eine einmalige Destillation genügt zu diesem Zwecke durchaus nicht, man muss vielmehr dem Retortenrückstand des Oefteren Wasser zusetzen und immer wieder destilliren, um das Phenol vollständig in die Vorlage überzuführen. Es erhebt sich nun die Frage, wie man sich überzeugen kann, dass die Destillation beendigt, d. h. dass sämmtliches Phenol in die Vorlage übergegangen sei. Es wurde empfohlen, die Destillation so lange fortzusetzen, bis eine gesondert aufgefangene Probe des Destillates mit Bromwasser versetzt, keine Trübung mehr zeigt; nach unseren Erfahrungen ist man hierbei jedoch erheblichen Irrthümern ausgesetzt. Die Reaction bleibt, wie wir bei unseren Versuchen mit Parakresol gesehen haben, bei grösseren Verdünnungen gewöhnlich aus; es braucht ein Destillat mit Brom keine Spur einer Trübung zu geben und kann dabei doch noch ganz beträchtliche Quantitäten von Phenolen enthalten, wie man aus der Menge des von demselben bei Ausführung der Titration gebundenen Jods ersehen kann.

Ein Liter Harn wurde bei alkalischer Reaction auf etwa 100 cbcm. eingedampft, mit der nöthigen Menge Schwefelsäure versetzt und der Destillation unterworfen, bis eine Probe des Destillates keine Spur einer Bromreaction mehr gab. Die bis dahin übergegangene Flüssigkeit wurde nochmals über $CaCO_3$ destillirt und dann titrirt, wobei 33,3 cbcm. $^1/_{10}$-n.-Jodlösung

verbraucht wurden. Die Destillation wurde nun, nachdem der Rückstand mit Wasser verdünnt worden war, noch weiter fortgesetzt und das jetzt übergehende Destillat gesondert aufgefangen; seine Menge betrug nach abermaliger Destillation über $CaCO_3$ 236 cbcm. 120 cbcm. davon wurden zur Titration mit Jod verwendet, es wurden 5,9 cbcm. gebunden, was für das ganze Destillat 11,6 cbcm. $^1/_{10}$-n.-Jod ausmacht. Da das Destillat keine anderen jodbindenden Substanzen enthalten konnte, so musste das Jodbindungsvermögen desselben auf Rechnung von noch darin enthaltenden Phenolen gesetzt werden. Wir überzeugten uns auf folgende Weise, dass dies thatsächlich der Fall ist. Der Rest des Destillates wurde mit Aether ausgeschüttelt, der Aether verdunstet und der Rückstand in wenig Wasser gelöst; die so erhaltene Lösung gab nun in ausgeprägtester Weise Phenolreactionen, sie zeigte beim Kochen mit Millon'schem Reagens eine prachtvolle Rothfärbung und gab mit Bromwasser eine starke Trübung. Die Menge des im zweiten Destillate befindlichen Phenols beträgt mehr als ein Drittel der im ersten enthaltenen Quantität, ist also keineswegs zu vernachlässigen.

Es ergibt sich somit, dass der negative Ausfall der Bromreaction im Destillat durchaus nicht berechtigt, die Destillation als vollendet anzusehen; man muss dieselbe vielmehr, wenn die Gewinnung des im Harn enthaltenen Phenols wirklich eine vollständige sein soll, unter Ersatz des abdestillirten Wassers so lange fortsetzen, bis das Destillat bei der mit ihm vorgenommenen Titration nur noch sehr geringe Mengen Jod oder gar keine mehr zu binden vermag. Dieses Ziel erreicht man gewöhnlich nach fünf- bis sechsmaliger Destillation des Harnrückstandes. In den ersten zwei oder drei Destillaten ist der bei Weitem grösste Theil der Phenole enthalten; sie sind um so reicher daran im Vergleich zu den späteren, in je concentrirterer Lösung sich das Phenol im Harn befand. Dies könnte auch die von Munk gefundene Thatsache erklären, dass Harne, welche vorher eingedampft worden waren, erheblich mehr Phenol liefern, als vorher nicht concentrirte. Auch aus diesem Grunde ist also das vorherige Eindampfen des

Harns, welches zugleich zur Entfernung des Acetons dient, zu empfehlen.

Auf Grund der vorgehend geschilderten Betrachtungen schlagen wir für die quantitative Bestimmung der Phenole im Harn folgendes Verfahren vor.

500 cbcm. Harn oder mehr werden bei schwach alkalischer Reaction auf etwa 100 cbcm. eingedampft, der concentrirte Harn in ein passendes Destillationskölbchen übergeführt, mit so viel Schwefelsäure versetzt, dass die Flüssigkeit circa 5 % der ursprünglichen Harnmenge davon enthält, und der Destillation unterworfen. Wenn der Kölbcheninhalt so weit abdestillirt ist, dass die Flüssigkeit heftig zu stossen beginnt und dadurch die Gefahr des Ueberspritzens in die Vorlage eintritt, verdünnt man den Rückstand im Kölbchen mit Wasser und setzt die Destillation fort. Die ersten 2—3 Destillate können gemeinsam aufgefangen und weiter verarbeitet werden, die folgenden werden zweckmässig gesondert von einander untersucht. Die einzelnen Portionen des Destillates werden mit etwas Calciumcarbonat versetzt, ordentlich durchgeschüttelt, bis die saure Reaction verschwunden ist, und abermals abdestillirt. Das jetzt erhaltene Destillat ist für die Titration mit Jod geeignet.

Der bei der Destillation mit Calciumcarbonat bleibende Rückstand sollte zur vollständigen Gewinnung des Phenols noch mit Wasser destillirt werden. Das kann man sich ersparen, wenn man diesen Rückstand mit den späteren Harndestillaten behandelt, nöthigenfalls unter nochmaligem Zusatz von Calciumcarbonat.

Das Destillat kann in einem offenen Gefäss aufgefangen werden. Ich befürchtete anfänglich, dass bei der Destillation Verluste an Phenol durch Verdunstung aus der Vorlage eintreten könnten, und versah die als Vorlage dienende Flasche mit einem gut schliessenden doppelt gebohrten Stöpsel, dessen eine Bohrung zur Aufnahme des nach abwärts gekrümmten Abflussrohrs des Kühlers diente, und durch dessen zweite Bohrung ein kleines mit Wasser beschicktes Péligot'sches U-Röhrchen der Vorlage angefügt war; der Inhalt des letzteren wurde nach Beendigung der Destillation sorgfältig in die Vorlage zurückgespült. Bei späteren Versuchen konnte ich mich jedoch überzeugen, dass die Destillation, selbst wenn sie bei völlig offener Vorlage vorgenommen wird, mit keinen merklichen Verlusten an Phenol verknüpft ist.

Die ganze Flüssigkeit, welche durch Vereinigung der ersten Destillate erhalten wurde, oder ein abgemessener Theil derselben wird in eine mit einem gut eingeschliffenen Glasstöpsel verschliessbare Flasche gebracht und mit $^1/_{10}$-n.-Natronlauge[1]) bis zur ziemlich stark alkalischen Reaction versetzt, hierauf die Flasche in ein heisses Wasserbad getaucht und längere Zeit in demselben belassen. Zur heissen Flüssigkeit lässt man dann $^1/_{10}$-n.-Jodlösung zufliessen und zwar 15—25 cbcm. mehr von der $^1/_{10}$-n.-Jodlösung, als man vorher $^1/_{10}$-n.-Natronlauge zugesetzt hat, verschliesst das Gefäss sofort und schüttelt um. Nach dem Erkalten wird angesäuert und das frei gewordene Jod in der Flasche selbst mit $^1/_{10}$-n.-Natriumthiosulphatlösung zurücktitrirt. Ebenso wird bei allen folgenden Portionen des Destillates verfahren, so lange dieselben noch Jod in nennenswerther Menge binden: wenn dies nicht mehr der Fall ist, kann die Destillation als beendigt angesehen werden. Die von den einzelnen Destillaten gebundenen Jodmengen werden addirt, die Summe repräsentirt das von beiden Phenolen zur Bildung des Trijodsubstitutionsderivates verbrauchte Jod.

Wie viel Natron und Jod man bei der Titration zu verwenden hat, hängt natürlich von der Menge des im Destillat enthaltenen Phenols ab; jedenfalls muss die Flüssigkeit nach dem Zusatze des Jods sich von dem letzteren stark braun gefärbt erweisen. Gewöhnlich kommt man für normale Harne bei den ersten Destillaten mit 20 cbcm. $^1/_{10}$-n.-NaOH und 40 cbcm. $^1/_{10}$-n.-J aus; für alle Fälle empfiehlt es sich, von den vereinigten ersten Destillaten nur einen Theil zur Titration zu benützen, um eventuell die Titration wiederholen zu können. Für die folgenden Destillate dient der Jodverbrauch der vorhergehenden als Richtschnur.

Von der verbrauchten $^1/_{10}$-n.-Jodlösung zeigt 1 cbcm. 1,567 mgr. Phenol oder 1,8018 mgr. Kresol an. Auf eines der beiden Phenole ist die verbrauchte Jodmenge zu berechnen.

---

[1]) Die Lauge muss nitritfrei sein; man bereitet sie am besten aus Natrium hydricum e natrio.

Da unter den Harnphenolen das Parakresol vorwaltet, so wird es sich empfehlen, dieses der Rechnung zu Grunde zu legen.

Zum Schluss möchte ich noch erwähnen, dass mir einige mit normalem Harn nach diesem Verfahren vorgenommene quantitative Bestimmungen gezeigt haben, dass der Gehalt des Harns normaler Individuen an Phenolen bei gemischter Kost beträchtlich grösser sein kann, als gewöhnlich angenommen wird (0,03 gr. in der Tagesmenge). So fand ich in einem Falle in der Tagesmenge 0,07 gr., in einem anderen sogar 0,106 gr. Phenol (oder als Kresol gerechnet 0,081 gr. und 0,122 gr.).

Es lässt sich demnach auch hoffen, dass alle solche Fragen, welche mit der Ausscheidung des Phenols im Harn zusammenhängen, nach der beschriebenen Methode mit grösserer Aussicht auf Erfolg in Angriff genommen werden können.

Notiz zu der Harnstoffbestimmungsmethode von K. A. H. Mörner und J. Sjöqvist.

Von

Dr. Eyvind Bödtker.

(Der Redaction zugegangen am 14. Juni 1892.)

Eine exacte und schnell ausführbare Methode zur Bestimmung des Harnstoffes hat man schon lange vermissen müssen.

Die bis jetzt angewandten Methoden liefern sämmtlich, mit Ausnahme von derjenigen von Bunsen, beinahe oder ganz den totalen Stickstoffgehalt als Harnstoff berechnet, und ausserdem sind sie alle ziemlich umständlich.

Es muss daher als ein grosser Fortschritt der Harnanalyse bezeichnet werden, dass voriges Jahr zwei Forscher, Mörner und Sjöqvist[1]), ein Verfahren angegeben haben, das in Bezug auf Genauigkeit und schnelle Ausführbarkeit nichts zu wünschen übrig lässt.

Wir haben in dem letzten Jahre diese Methode in dem hiesigen Institute vielfach angewandt und zwar stets mit befriedigenden Resultaten. — Bevor wir aber dem Verfahren allgemeine Benutzung gewährten, habe ich es auf Veranlassung vom Herrn Prof. Dr. Torup einer Controlle unterworfen, die die Anwendbarkeit desselben völlig bestätigt hat. Es schien mir deshalb empfehlenswerth, die Ergebnisse meiner Untersuchung zu veröffentlichen.

Das Princip der Methode beruht darauf, dass die stickstoffhaltigen organischen Verbindungen des Harns, mit Aus-

[1]) Skandinavisches Archiv für Physiologie, Bd. 2, S. 438, 1891.

nahme von dem Harnstoffe, von einer concentrirten Lösung von Chlorbarium und Bariumoxydhydrat zum grössten Theil gefällt werden.

Wird die Fällung mit einem Ueberschusse von Alkohol-Aether versetzt, so gehen nur der Harnstoff und kleine Mengen von Ammonsalzen und Bariumoxydhydrat in Lösung. Beim Einengen der filtrirten alkoholisch-ätherischen Lösung bei niedriger Temperatur werden die Ammonsalze durch das vorhandene Bariumoxydhydrat oder durch Zusatz von Magnesia zerstört; in dem Rückstand wird eine Stickstoffbestimmung nach dem Kjeldahl'schen Verfahren gemacht und der Stickstoff auf Harnstoff umgerechnet.

Mörner und Sjöqvist haben ihrem Verfahren eine sehr grosse Anzahl von Beleganalysen beigefügt. Die Analysen sind in künstlichen, normalen und pathologischen Harnen ausgeführt worden.

Ich habe Versuche theils mit wässerigen Harnstofflösungen, theils mit normalen Harnen, denen Ammonsalze, beziehungsweise stickstoffhaltige Extractivstoffe, wie Kreatinin, Hippursäure und Harnsäure zugesetzt waren, vorgenommen.

Versuch I.

Es stand zuerst zu entscheiden, ob sich aus einer reinen Harnstofflösung die ganze Quantität Harnstoff ermitteln liesse.

Zu diesem Zwecke wurden 5 cbcm. einer 2procentigen Harnstofflösung mit 5 cbcm. einer gesättigten Chlorbariumlösung, in welcher 5% Bariumoxydhydrat gelöst war, gemischt. Dann wurden 150 cbcm. eines Gemisches von 1 Theil Aether und 2 Theilen 90procentigem Alkohol zugesetzt, geschüttelt und bis den nächsten Tag in geschlossenem Gefässe stehen gelassen. Alsdann wurden die Niederschläge abfiltrirt, mit Alkohol-Aethermischung gewaschen und in einer Porcellanschaale nach Zusatz von etwa 0,5 gr. Magnesia bei 50—60° eingedampft. Nach dem Erkalten wurde die concentrirte, etwa 15 cbcm. betragende Flüssigkeit mit 10 cbcm. concentrirter Schwefelsäure versetzt und auf dem siedenden Wasserbade erhitzt, bis sich das Volum nicht mehr minderte.

Dann wurde die Flüssigkeit in den Aufschliesskolben gespült und erhitzt, bis vollständige Aufschliessung erfolgte. Es wurde nunmehr mit überschüssiger Natronlauge destillirt und das Destillat in $^1/_{10}$-n.-H_2SO_4 aufgefangen.

Die Ergebnisse dreier Bestimmungen zeigt folgende Tabelle:

Tabelle I.

Harnstoffgehalt der Lösungen. %	Abgemessenes Volum.	Entsprechend cbcm. $^1/_{10}$-n.-NH_4OH.	Entsprechend % N als Harnstoff vorhanden.	Entsprechend % wiedergefundener Harnstoff.	Differenz des vorhandenen und des wiedergefundenen Harnstoffes. %	Zugesetztes MgO. gr.
2,0000	5 cbcm.	32,7	0,9182	1,9650	÷ 0,0350	0,5
2,0484	3 »	21,1	0,9875	2,1133	+ 0,0649	kein
2,0484	3 »	20,9	0,9781	2,0931	+ 0,0447	kein

Mörner und Sjöqvist erhielten gewöhnlich ein kleines Deficit an Harnstoff, was laut der Tabelle auch bei meiner ersten Bestimmung der Fall war. In den beiden letzten Bestimmungen ergibt sich dagegen ein kleiner Mehrgehalt an Harnstoff. Dieser Umstand wird nicht dadurch erklärt, dass die Ausführung ohne Zusatz von Magnesia geschah; denn die Lösung enthielt ja nur reinen Harnstoff, und der Zusatz von Magnesia war somit überflüssig. Wahrscheinlich ist die Ursache darin zu suchen, dass zu diesen Bestimmungen nur 3 cbcm. Harnstofflösung verwendet wurden, welche einfach mit einer gewöhnlichen Pipette abgemessen wurden. Hierbei wird natürlich der Abmessungsfehler grösser.

Die Anwendung eines kleineren Volumen Harns scheint aus mehreren Gründen empfehlenswerth. Die Aufschliessung mit concentrirter Schwefelsäure, sowie die nachherige Destillation mit Natronlauge würden beispielsweise nicht so lange dauern, und ausserdem würde eine Ersparniss an Alkohol-Aether eintreten. Ich habe deswegen bei einer Mehrzahl der folgenden Versuche nur 2,5—3 cbcm. Harn angewendet, die ich mittelst einer Differentialpipette herausgenommen habe. Der Abmessungsfehler wird hierbei, was meine späteren Versuche zeigen, ziemlich beseitigt.

Versuch II.

Es wurden jetzt Versuche angestellt, um zu entscheiden, in wie weit die Gegenwart von Ammonsalzen die Wiederermittelung des Harnstoffes beeinträchtige.

Mörner und Sjöqvist verwandten in der Alkohol-Aethermischung einen Alkohol von 96 %. Bei Anwendung eines 90procentigen Alkohols würde vielleicht die Löslichkeit des Bariumoxydhydrats ein wenig erhöht und somit der Zusatz von MgO überflüssig werden, was wegen der Aufschliessung mit concentrirter Schwefelsäure wünschenswerth wäre. Die Gegenwart von grossen Mengen Salzen trägt nämlich zum starken Stossen und eventuellen Platzen des Aufschliesskolbens sehr bei.

Zu diesem Zwecke wurden vergleichende Versuche mit und ohne Zusatz von MgO angestellt. Die Ergebnisse zeigt folgende Tabelle:

Tabelle II.

Harnstoffgehalt der Lösung. %	Zugesetze Ammonsalze. %	Abgemessenes Volum.	Entsprechend cbcm. $^1/_{10}$-n.-NH_4OH.	Entsprechend % N als Harnstoff vorhanden.	Entsprechend % wiedergefundener Harnstoff.	Differenz des vorhandenen und des wiedergefundenen Harnstoffes. %	Zugesetztes MgO. gr.
2,0484	$NaNH_4HPO_4$: 0,3002 NH_4Cl: 0,3084	3 cbcm.	22,4	1,0483	2,2434	+ 0,1950	kein
»	»	3 »	22,3	1,0436	2,2333	+ 0,1849	»
»	»	2,5 »	17,5	0,9828	2,1032	+ 0,0548	0,5
»	»	2,5 »	17,4	0,9772	2,0912	+ 0,0428	0,5

Aus der Tabelle ergibt sich, dass der Zusatz von MgO bei Anwesenheit grosser Mengen von Ammonsalzen nothwendig ist.

Versuch III.

In normalem Harn wurden vor und nach dem Zusatze von einer gewogenen Menge reinen Harnstoffes Harnstoffbestimmungen ausgeführt. Die Ergebnisse zeigt nachstehende Tabelle:

Tabelle III.

Zugesetzter Harnstoff. %	Abgemessenes Volum Harn.	Entsprechend cbcm. $^1/_{10}$-n.-NH_4OH.	Entsprechend % N als Harnstoff vorhanden.	Entsprechend % Harnstoff.	Differenz des gefundenen und des zugesetzten Harnstoffes. %	Mittel der gefundenen Harnstoffgehalte. %	Differenz der Mittel. %	Zugesetztes MgO. gr.
kein	5 cbcm.	34,0	0,9547	2,0431	—	2,0401	0,4387	0,5
»	5 »	33,9	0,9519	2,0371	—			0,5
0,4562	5 »	41,2	1,1569	2,4758	2,0196	2,4788		0,5
»	5 »	41,3	1,1597	2,4818	2,0256			0,5

Die Tabelle zeigt, dass das Verfahren bei normalem Harn recht befriedigende Resultate liefert. Wenn die zwei ersten Harnstoffbestimmungen als massgebend angenommen werden, lassen sich die zugesetzten 0,4562 % Harnstoff mit einem Deficit von 0,0175 % wieder ermitteln. Werden die sämmtlichen vier Bestimmungen berücksichtigt, erscheint der Fehler etwa halb so gross.

Versuch IV.

Es wurden nunmehr Harnstoffbestimmungen in einem normalen Harn ausgeführt. Darauf wurden in demselben Harn Ammonsalze gelöst, und der Harnstoff nochmals bestimmt.

Die Resultate werden durch die nachstehende Tabelle dargestellt:

Tabelle IV.

Abgemessenes Volum Harn.	Entsprechend cbcm. $^1/_{10}$-n.-NH_4OH.	Entsprechend % N als Harnstoff vorhanden.	Entsprechend % Harnstoff.	Differenz zwischen den vor u. nach d. Zusatz v. Ammonsalzen gefund. Harnstoffmengen. %	Zugesetztes Ammonsalz. %	Zugesetztes MgO. gr.
2,5 cbcm.	18,00	1,0109	2,1633	—	kein	kein
2,5 »	18,00	1,0109	2,1633	-	kein	0,5
2,5 »	19,00	1,0670	2,2834	+ 0,1201	$NaNH_4HPO_4$: 0,5600 gr. NH_4Cl: 0,4934 gr.	kein
2,5 »	18,4	1,0333	2,2113	+ 0,0480	»	kein
2,5 »	17,4	0,9772	2,0912	÷ 0,0721	»	0,5
2,5 »	17,5	0,9828	2,1032	÷ 0,0601	»	0,5

Die Uebereinstimmungen sind somit immer noch sehr befriedigend.

Die zwei letzten Bestimmungen erweisen ausnahmsweise ein kleines Deficit an Harnstoff. Der Zusatz von MgO erscheint demnach nicht gerade unbedingt rathsam, um so weniger, weil die Harnstoffbestimmungen in normalem Harn ohne Zusatz von MgO vollständig befriedigende Resultate liefern.

Versuch V.

In einer Probe normalen Harns wurde zunächst der Gesammtstickstoff und dann der Harnstoff bestimmt. Darauf wurde in dem Harn etwas Harnsäure, Kreatinin, Hippursäure und Ammonsalz gelöst, und alsdann der Gesammtstickstoff sowie der Harnstoff nochmals bestimmt.

Die Ergebnisse zeigt die nachfolgende Tabelle:

Tabelle V.

Abgemessenes Volum Harn.	Entsprech. cbcm. $^{1}/_{10}$-n.-NH_4OH (als Totalstickstoff vorhanden).	Entsprech. cbcm. $^{1}/_{10}$-n.-NH_4OH (als Harnstoff vorhanden).	Entsprechend % Gesammtstickstoff.	Entsprechend % N als Harnstoff vorhanden.	Entsprechend % Harnstoff.	Zugesetzte N-Stoffe. %	Differenz zwischen den vor u. nach dem Zusatze von N-Stoff gefundenen Harnstoffmengen. % (im Mittel). Mittel:	Differenz:	Zugesetztes MgO. gr.
[illegible] cbcm.	45,7	43,3	1,2833	1,2159	2,6020	keine	2,6245	÷0,0255	0,5
[illegible] »	45,9	43,0	1,2889	1,2074	2,5838	keine			0,5
[illegible],5 »	»	22,0	»	1,2355	2,6439	keine			kein
[illegible],5 »	»	22,2	»	1,2468	2,6682	keine			kein
[illegible],5 »	24,7	22,1	1,3872	1,2411	2,6560	Harnsäure: 0,0728 gr. Kreatinin: 0,0698 gr. Hippursäure: 0,0484 gr. NH_4SO_4: 0,0783 gr.	2,6500	+0,0255	kein
[illegible],5 »	»	22,2	»	1,2468	2,6680	»			kein
[illegible] »	»	43,8	»	1,2299	2,6320	»			0,5
[illegible] »	»	44,0	»	1,2355	2,6440	»			0,5

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass das Verfahren selbst bei Gegenwart von erheblichen Mengen stickstoffhaltiger Körper genaue Uebereinstimmungen erzielen lässt.

Die grosse Anwendbarkeit der Methode darf somit als endgiltig bewiesen betrachtet werden.

Für die Ausführung der Methode empfehle ich im Einzelnen folgendes Verfahren, das natürlich im Wesentlichen mit der Vorschrift von Mörner und Sjöqvist übereinstimmt:

2,5 cbcm. Harn werden in einem Kölbchen mit 2,5 cbcm. einer Barytlösung versetzt, welche in einem Liter 50 gr. Bariumoxydhydrat und 350 gr. Bariumchlorid enthält. Der Mischung werden 75 cbcm. eines Gemisches von 1 Theil Aether und 2 Theilen Alkohol (90 %) zugesetzt. Das Gefäss wird verschlossen, geschüttelt und bis zum folgenden Tage hingestellt. Alsdann wird in eine Porcellanschaale filtrirt und der Niederschlag mit etwa 50 cbcm. der Alkohol-Aethermischung gewaschen. Der Alkohol-Aether wird jetzt auf dem Wasserbade bei einer Temperatur von 50—60°, bis das Volum etwa 20 cbcm. beträgt, verjagt. Besass der ursprüngliche Harn ein hohes specifisches Gewicht, ist während des Einengens ein Zusatz von etwa einem halben gr. MgO rathsam.

Die eingedampfte Flüssigkeit wird jetzt mit 10 cbcm. concentrirter Schwefelsäure vorsichtig versetzt und das Wasserbad bis zum Sieden erhitzt. Wenn das Volum nicht mehr abnimmt, wird die Flüssigkeit in den Aufschliesskolben gegossen und die Schaale mit destillirtem Wasser nachgespült.

Das Aufschliessen gelingt durch Erhitzen auf einem Drahtnetz ohne Zusatz von Quecksilber und ohne gewaltsames Stossen in ein paar Stunden.

Schliesslich wird in bekannter Weise mit überschüssiger Natronlauge destillirt und das gefundene Ammoniak auf Stickstoff umgerechnet.

Die gefundenen Procente Stickstoff mit 2,14 multiplicirt geben dann den Harnstoff in Procenten an.

Christiania, Juni 1892.

Physiologisches Institut der Universität.

Ueber die Diffusion von Sauerstoff und Stickstoff in Wasser.

Von

C. Duncan und **F. Hoppe-Seyler.**

Durch die alltägliche Erfahrung in chemischen Laboratorien ist bekannt, dass zur Sättigung von Flüssigkeiten mit Gasen längeres Durchleiten der Gase oder oft wiederholtes Zusammenschütteln derselben mit der Flüssigkeit erforderlich ist. Man darf annehmen, dass eine unmessbar dünne Schicht der Flüssigkeit an der Oberfläche, an welcher sie mit einem Gase in Berührung sich befindet, mit dem Gase für die herrschende Temperatur und die Tension des Gases in sehr kurzer Zeit gesättigt sei. Während der kurzen hierfür erforderlichen Zeit werden Gasmoleküle auch in die tieferen Schichten der Flüssigkeit einzudringen begonnen haben, wie aber dies Vorrücken zu denken sei, darüber fehlen die Vorstellungen. Dass die Bewegungen der Gasmoleküle in den Flüssigkeiten mit bedeutenden Widerständen zu kämpfen haben, beweisen die Erscheinungen, welche man bei schneller Druckverminderung oder Temperaturerhöhung an Flüssigkeiten, die mit Gasen für die bis dahin herrschende Temperatur und Druck gesättigt waren, sehr oft zu beobachten Gelegenheit hat. Das Gas zerreisst den Zusammenhang der Flüssigkeit, offenbar weil es nicht schnell genug die Flüssigkeit durchwandern kann, und wird in der Form von Gasbläschen in der Flüssigkeit frei.

Messende Versuche auf diesem Gebiete sind uns mit Ausnahme einer Arbeit von Stefan[1]), welche unter besonderen

[1]) Ber. d. Acad. d. Wiss., Wien (Abth. 2), Bd. 77, S. 371.

Verhältnissen die Diffusion der Kohlensäure in Wasser und in Alkohol behandelt, nicht bekannt. Dass es an solchen Versuchen fehlt, wird wohl zum nicht geringen Theil verursacht sein durch den Mangel an guten Methoden der Gewinnung der Flüssigkeitsportionen und der in ihnen absorbirten Gase ohne wesentliche Störung der Anordnung der Flüssigkeitsschichten einerseits und ohne Aenderung des Gasgehaltes in den entnommenen Flüssigkeitsportionen bei ihrer Entnahme und Uebertragung in die Apparate für ihre Untersuchung.

Die nächste Veranlassung zur Ausführung dieser Untersuchungen gaben uns Versuche über die Respiration der Fische, ebenso wie schon Provençal und A. Humboldt[1]) durch ihre berühmten Arbeiten über diesen Gegenstand einige Experimente über die Geschwindigkeit der Bewegung der Gastheilchen in Wasser auszuführen sich bewogen fanden.

Für unsere Versuche diente ein über 1 Meter langes, cylindrisches, 6,5 cm. weites Glasrohr A, dessen beide Enden conisch sich verengend in 5 mm. weite Glasansatzröhren übergingen, über welche Stücken von Kautschukschlauch von 6 bis 7 mm. Wandstärke gezogen und mit Eisendraht festgebunden waren. Das Rohr A ist im Gaszimmer im Keller des Physiologisch-chemischen Instituts durch drei sehr starke Halter senkrecht an der Wand befestigt, so dass die Axe des Rohrs 16,5 cm. von der Wand entfernt ist. Der Ort ist sehr genügend hell für alle Ablesungen, kann aber nie von den Sonnenstrahlen getroffen werden. Die Thermometer- und Barometerablesungen wurden fortlaufend im selben Zimmer ausgeführt, die Fenster nie geöffnet, die Thür verschlossen gehalten, andere Arbeiten in diesem Raume zur Zeit der Versuche nicht ausgeführt. Es befand sich keine Heizung in der Nähe.

---

[1]) Recherches sur la respiration des poissons. Mémoires de la Société d'Arcueil, T. II, p. 359, 1809. Sie sagen p. 396: «Nous avons cru devoir faire des expériences directes sur la propagation progressive de l'oxygène et de l'azote atmosphérique dans l'eau récemment privée d'air. Nous avons observé que ces éléments passent assez lentement d'une molécule de l'eau à une autre» etc. Messungen sind nicht angegeben.

An das Rohr A konnte mittelst des oben angesetzten Kautschukschlauchstückes ein langes Glasrohr angefügt werden zur Verbindung mit einer gut wirksamen Wasserluftpumpe. An das untere Kautschukrohrstück war ein Stück Glasrohr angesetzt und an dieses ein ungefähr 30 cm. langes Stück Kautschukschlauch von 6—7 mm. Wandstärke. Durch Schraubenklemmen konnten die Kautschukschlauchstücke geschlossen werden.

Bei dem Beginn eines Versuchs wird das Rohr A mittelst einer starken Luftpumpe evacuirt, doch darf die Druckerniedrigung nicht bis auf wenige Millimeter Quecksilber gebracht werden. Bei dem ersten Versuche haben wir dies ausgeführt, indem mittelst der Quecksilberluftpumpe sehr vollständig die Luft entfernt wurde. Als dann heisses ausgekochtes Wasser von unten her in das Rohr eingeleitet wurde, geschah die Einströmung unter so heftigen harten Schlägen, dass die Zertrümmerung des Rohrs bei der Fortsetzung dieser Füllung sicher vorauszusehen war. In allen übrigen Versuchen wurde nicht so weit evacuirt, die Füllung des Rohrs dann von unten her mit destillirtem Wasser ausgeführt, welches unmittelbar vorher $1^1/_2$ bis über 2 Stunden im Sieden erhalten war. Durch ein heberförmig gekrümmtes Glasrohr wurde das Wasser vom Boden der grossen Kolben, in denen es im Sieden erhalten war, entnommen, strömte dann schräg abwärts durch einen langen Liebig'schen Kühler und trat, etwas gekühlt, doch immer noch heiss, unten in das Rohr A ein, füllte das Rohr bei dem Steigen in dem obersten Theil, durch Wirkung der Wasserluftpumpe unterstützt. Ungefähr $^1/_2$ Liter Wasser wurde oben abfliessen gelassen, dann durch die Schraubenklemmen die Kautschukschläuche oben und unten geschlossen und das Glasrohr, welches oben das Rohr A mit der Wasserluftpumpe verbindet, abgenommen. 20 bis 24 Stunden blieb dann das Rohr geschlossen zur vollständigen Abkühlung.

Dann wurde die Klemme oben am Rohr geöffnet, so dass die Luft frei eintreten konnte, und nun unten eine Portion Wasser in ein mit Quecksilber gefülltes Glasrohr abgezogen zur Analyse der in demselben absorbirt enthaltenen Gase. Die für diesen Zweck benutzten Glasröhren sind cylindrisch

beiderseits an den Enden in 5 mm. weite Röhren ausgezogen von 409,208 bis 453,092 cbcm. Inhalt, an den Enden mit starkwandigen Kautschukschlauchstücken versehen, welche mit Eisendraht festgebunden sind. Eine solche Röhre wird durch starken Retortenhalter senkrecht an einem Stativ von Eisen befestigt, unten durch ein Stück Glasrohr und längeren Kautschukschlauch mit einem cylindrischen, unten zu 5 mm. weiten Glasrohr ausgezogenen Quecksilberbehälter verbunden. Der Quecksilberbehälter wird zur Füllung des Rohrs hoch gestellt, so dass das Quecksilber das Rohr bis in den oberen Kautschukschlauchansatz füllt, durch Klemmen oben und unten das Rohr geschlossen und der Quecksilberbehälter tiefer gestellt.

Es wird nun an das 30 cm. lange Kautschukrohr unten am Rohr A ein Glashahn angefügt, durch Oeffnen des Hahns etwas Wasser ausfliessen gelassen zur Austreibung der Luft, das offene Ende des Glashahnrohrstücks unter Vermeidung einer Luftblase in das obere Kautschukrohrstück des mit Quecksilber gefüllten Glasrohrs eingefügt, mit Draht festgebunden, die Klemme auf diesem Kautschukrohrstück, ebenso der Glashahn, zuletzt vorsichtig die untere Klemme am mit Quecksilber gefüllten Rohr geöffnet. Das Quecksilber sinkt langsam und das Rohr füllt sich dafür mit dem zu untersuchenden Wasser. Erscheint das Wasser in dem Stück Glasrohr zwischen dem damit gefüllten Glasrohr und dem Quecksilberbehälter, so werden die Klemmen mit Ausnahme der am oberen Ende vom Rohr A sämmtlich geschlossen, auch eine Schraubenklemme auf dem langen Kautschukschlauch des Quecksilberbehälters geschlossen, ebenso der Glashahn, dann sowohl dieser als das Glasröhrchen unten am Kautschukrohrstück des mit Wasser gefüllten Rohrs abgenommen und das abgenommene Wasser durch Auskochen unter Anwendung einer kleinen Quecksilberpumpe[1]) von Gasen befreit, die Gase analysirt nach Bunsen's Methoden.

Das mit Wasser bis ungefähr 97 cm. über dem untern engen Abflussrohr gefüllte Rohr A, in welchem das Wasser

[1]) Der hierfür benutzte Apparat ist von dem Einen von uns beschrieben und abgebildet in der Zeitschrift f. analyt. Chemie, 1892, Heft 4, S. 367.

an seiner 33,17 □cm. betragenden Oberfläche frei der atm. Luft dargeboten war, wurde nun in den einzelnen Versuchen verschiedene Anzahl von Tagen ruhig stehen gelassen. Am Ende des Versuchs wurden 2 bis 4 Kochröhren in der beschriebenen Weise über Quecksilber mit Wasser aus Rohr A gefüllt und alsbald ausgekocht, die Gase gemessen und analysirt. Die CO_2 wurde durch Natronlauge absorbirt, der Sauerstoff durch Explosion mit Wasserstoff im hohen Eudiometer bestimmt.

Alle in den folgenden Versuchsresultaten angeführten Gasvolumina sind für 0° und 760 mm. Barometerdruck berechnet.

Versuch I.

Am 28. Januar 1892 Nachmittags $5^1/_2$ Uhr nach sehr vollständigem Evacuiren wurde Rohr A mit $1^1/_2$ Stunde lang im Sieden erhaltenem Wasser sehr heiss noch von unten her gefüllt, dabei aber wegen der heftigen Schläge bald oben geöffnet, dann sofort oben offen stehen gelassen.

			Barometer: Millim.	Temperatur:
Am 29.	Januar	12 Uhr	755,1	7,7°
» 30.	»	Morgens 9 Uhr .	758,5	8,5°
» 30.	»	Nachm. $4^1/_2$ Uhr.	757,0	8,8°
» 31.	»	Morgens $9^3/_4$ Uhr.	755,5	9,1°

Am 31. Januar Morgens $9^3/_4$ Uhr wurden die Kochröhren No. 11 und No. 12 über Quecksilber mit Wasser, unten aus Rohr A abgelassen, gefüllt und am selben Tage ausgekocht.

Es wurde gefunden:

	In Kochrohr No. 11:	Berechnet für 1 Liter Wasser:	In Kochrohr No. 12:	Berechnet für 1 Liter Wasser:
CO_2 =	— cbcm.	— cbcm.	0,0639 cbcm.	0,143 cbcm.
O_2 =	0,6167 »	1,507 »	0,6781 »	1,524 »
N_2 =	1,6141 »	3,944 »	1,7119 »	3,848 »

Versuch II.

Am 2. Februar 1892 Morgens 11 Uhr wurde das evacuirte Rohr A mit 2 Stunden lang im Sieden erhaltenem Wasser gefüllt, $^1/_2$ Liter Wasser oben ablaufen gelassen und nach Verschluss oben und unten bis zum 3. Februar Morgens $9^1/_2$ Uhr

zur Abkühlung stehen gelassen, dann oben geöffnet, sogleich Rohr 11 über Quecksilber mit Wasser aus Rohr A unten abgefüllt und ausgekocht.

Es wurde gefunden:

		In Kochrohr No. 11:	Für 1 Liter Wasser berechnet:
O_2	=	0,1934 cbcm.	0,4720 cbcm.
N_2	=	0,3132 »	0,7653 »
$O_2 + N_2$	=	0,5066 cbcm.	1,2373 cbcm.

Das Rohr A wurde nun oben offen, unten geschlossen gelassen bis zum 7. Februar Morgens 9 Uhr.

	Barometer:	Temperatur:
Am 3. Februar Morg. 9½ Uhr . .	734,8	9,5°
» 4. » » 11 Uhr . .	744,3	9,4°
» 4. » Abends	746,0	9,5°
» 5. » Morg. 9 Uhr . .	743,0	9,3°
» 5. » Nachm.	743,0	9,3°
» 6. » Morg. 9 Uhr . .	749,0	9,5°
» 6. » Abends	749,0	9,5°
» 7. » Morg. 9 Uhr . .	750,8	9,5°

Am 7. Februar Morgens 9 Uhr wurden die Kochröhren erst No. 9, dann No. 10 über Quecksilber mit Wasser unten aus Rohr A abgefüllt und ausgekocht.

Es wurden Gase gefunden:

		In Rohr No. 9:	Berechnet für 1 Liter Wasser:	In Rohr No. 10:	Für 1 Liter Wasser berechnet:
CO_2	=	0,0804 cbcm.	0,177 cbcm.	0,0742 cbcm.	0,170 cbcm.
O_2	=	0,7480 »	1,650 »	0,7490 »	1,716 »
N_2	=	1,8485 »	4,797 »	1,6096 »	3,688 »

Versuch III.

Am 8. Februar 1892 wurde das Rohr A Mittags 12 Uhr evacuirt, mit ausgekochtem Wasser gefüllt, über ½ Liter oben abfliessen gelassen, oben und unten geschlossen bis zum 9. Februar Morgens 9 Uhr 20 Min. stehen gelassen, oben dann geöffnet, das Kochrohr No. 9 über Quecksilber vom Rohr A abgefüllt und sofort ausgekocht.

		In Rohr No. 9 gefunden:	Berechnet für 1 Liter Wasser:
CO_2	=	0,0724 cbcm.	0,160 cbcm.
O_2	=	0,1125 »	0,248 »
N_2	=	0,4716 »	1,041 »

Das Rohr A wurde nun unten geschlossen, oben offen stehen gelassen bis zum 16. Februar Morgens 9 Uhr, dann die beiden Kochröhren No. 9 und No. 10 über Quecksilber mit Wasser unten aus Rohr A abgefüllt und ausgekocht.

			Barometer:	Temperatur:
9.	Februar	Morg. 9 Uhr 20 Min. .	752,9	9,6°
9.	»	Abends	757,0	10,0°
10.	»	Morg. 9¾ Uhr . .	763,0	9,6°
10.	»	Abends 6½ » . .	761,0	9,6°
11.	»	Morg. 10 » . .	763,0	9,8°
11.	»	Nachm. 5¼ » . .	761,0	9,9°
12.	»	Morg. 10 » . .	762,0	9,8°
12.	»	Abends 5½ » . .	761,0	10,0°
13.	»	Morg. 9¾ » . .	758,0	9,9°
14.	»	» 10½ » . .	755,0	9,6°
15.	»	» 9½ » . .	743,0	8,9°
15.	»	Abends 5 » . .	740,0	8,9°
16.	»	Morg. 9 » . .	737,0	8,2°

Es wurden gefunden:

	In Rohr No. 9:	Berechnet für 1 Liter Wasser:	In Rohr No. 10:	Berechnet für 1 Liter Wasser:
CO_2 =	0,0706 cbcm.	0,1550 cbcm.	0,0619 cbcm.	0,141 cbcm.
O_2 =	1,2302 ».	2,7150 »	1,1795 »	2,702 »
N_2 =	2,7503 »	6,0700 »	2,5835 »	5,920 »

Versuch IV.

Am 17. Februar 1892 Morgens 11 Uhr wurde Rohr A evacuirt und mit ausgekochtem destillirten Wasser gefüllt. Am 18. Februar Morgens 9½ Uhr wurde das Rohr A oben geöffnet und unten das Kochrohr No. 10 über Quecksilber mit Wasser, aus Rohr A unten abgelassen, gefüllt und ausgekocht. Rohr A dann unten geschlossen, oben offen stehen gelassen bis zum 23. Februar Vormittags 9½ Uhr, dann die Kochröhren No. 9, 10, 11, 12 in dieser Reihenfolge mit Wasser aus Rohr A unten abgefüllt und ausgekocht. Am Anfange des Versuchs wurde im Wasser in Kochrohr No. 10 gefunden:

		Berechnet für 1 Liter Wasser:
CO_2 =	0,0155 cbcm.	0,0356 cbcm.
O_2 =	0,0413 »	0,0947 »
N_2 =	0,2414 »	0,5533 »

			Barometer:	Temperatur:
18. Februar	Morg.	9 Uhr . .	737,0	6,8°
19. »	»	9 » . . .	737,0	7,3°
19. »	Nachm.	5 » . . .	737,2	7,4°
20. »	Morg.	9 » . . .	740,4	7,6°
20. »	Nachm.	$3^3/_4$ Uhr . .	743,0	8,0°
21. »	Morg.	10 » . .	745,0	7,7°
21. »	Nachm.	4 » . .	743,2	7,8°
22. »	Morg.	$9^1/_2$ » . .	742,9	7,5°
22. »	Nachm.	$3^1/_2$ » . .	745,0	7,5°
23. »	Morg.	$9^1/_2$ » . .	745,8	7,6°

Es wurden im Wasser absorbirt gefunden:

	In Rohr No. 9:	Berechnet für 1 Liter Wasser:	In Rohr No. 10:	Berechnet für 1 Liter Wasser:
CO_2 =	0,0243 cbcm.	0,0535 cbcm.	0,0460 cbcm.	0,1054 cbcm.
O_2 =	0,9083 »	2,0016 »	0,9171 »	2,1015 »
N_2 =	1,9875 »	4,3800 »	1,7883 »	4,0980 »

	In Rohr No. 11:	Berechnet für 1 Liter Wasser:	In Rohr No. 12:	Berechnet für 1 Liter Wasser;
CO_2 =	0,0186 cbcm.	0,0454 cbcm.	— cbcm.	— cbcm.
O_2 =	0,8851 »	2,1597 »	1,0092 »	2,2653 »
N_2 =	1,9593 »	4,7810 »	2,1149 »	4,7473 »

Versuch V.

Am 11. März 1892 Nachmittags wurde das Rohr A evacuirt, mit Wasser, welches 2 Stunden im Sieden erhalten war, gefüllt und geschlossen bis zum 12. März Morgens 10 Uhr 35 Min. zum Abkühlen stehen gelassen. Dann wurde oben durch Oeffnen der Klemme der Zutritt der atm. Luft hergestellt, unten über Quecksilber sogleich das Kochrohr No. 10 mit Wasser aus Rohr A abgefüllt und ausgekocht.

	In Rohr No. 10 gefunden:	Berechnet für 1 Liter Wasser:
CO_2 =	0,0974 cbcm.	0,2233 cbcm.
O_2 =	0,0464 »	0,1064 »
N_2 =	0,1782 »	0,4083 »

Das unten geschlossene, oben offene Rohr A blieb dann 2 Wochen lang ruhig stehen. Am 26. März 10 Uhr 30 Min. wurden 4 Portionen Wasser unten aus Rohr A über Quecksilber in die Kochröhren No. 9, 10, 11, 12 in dieser Reihenfolge abgelassen und nach einander ausgekocht.

Die Aenderungen des Luftdrucks und der Temperatur im Versuchsraume in dieser Zeit waren folgende:

			Barometer:	Temperatur:
12. März	Morg. $10^1/_2$ Uhr	. . .	739,0	7,6°
12. »	Nachm. 3 »	. . .	739,0	8,1°
13. März	Vorm. $11^1/_4$ »	. . .	738,0	8,0°
14. »	Vorm. $10^1/_2$ »	. . .	736,0	7,8°
14. »	Nachm. 4 »	. . .	736,0	8,0°
15. »	Vorm. $10^3/_4$ »	. . .	747,1	8,1°
15. »	Nachm. $5^3/_4$ »	. . .	750,0	8,2°
16. »	Vorm. $10^1/_2$ »	. . .	746,0	8,2°
16. »	Nachm. $5^1/_4$ »	. . .	752,0	8,4°
17. »	Vorm. $10^1/_2$ »	. . .	760,0	8,7°
17. »	Nachm. $5^1/_4$ »	. . .	761,0	8,9°
18. »	Vorm. 10 »	. . .	761,2	9,0°
18. »	Nachm. $5^1/_4$ »	. . .	759,0	9,3°
19. »	Vorm. 11 »	. . .	758,0	9,6°
19. »	Nachm. $4^1/_2$ »	. . .	756,0	9,8°
20. »	Vorm. $10^1/_2$ »	. . .	756,1	9,8°
21. »	Vorm. $9^1/_2$ »	. . .	761,0	10,0°
21. »	Nachm. $5^1/_2$ »	. . .	760,0	10,3°
22. »	Vorm. $9^3/_4$ »	. . .	759,3	10,3°
22. »	Nachm. 5 »	. . .	759,0	10,5°
23. »	Vorm. $9^1/_4$ »	. . .	758,0	10,7°
23. »	Nachm. 5 »	. . .	757,0	10,8°
24. »	Vorm. $9^1/_2$ »	. . .	757,3	10,7°
24. »	Nachm. $5^1/_4$ »	. . .	755,0	10,9°
25. »	Vorm. $10^1/_2$ »	. . .	754,8	10,8°
25. »	Nachm. $5^1/_4$ »	. . .	750,4	10;9°
26. »	Vorm. $10^1/_2$ »	. . .	749,0	11,2°

Die Analysen der Gase aus dem Wasser in den einzelnen Kochröhren ergaben:

	Rohr No. 9:	Berechnet für 1 Liter Wasser:	Rohr No. 10:		Berechnet für 1 Liter Wasser:	
	cbcm.	cbcm.	cbcm.	cbcm.	cbcm.	cbcm.
CO_2 =	0,1906	0,4206	0,3152		0,722	
O_2 =	5,3792[1]	11,8722	1,5545	5,1865	3,562	11,884
N_2 =			3,6320		8,322	
Gas =	5,5698		5,5017			

	Rohr No. 11:	Berechnet für 1 Liter Wasser.		Rohr No. 12:	Berechnet für 1 Liter Wasser:	
	cbcm.	cbcm.	cbcm.	cbcm.	cbcm.	cbcm.
CO_2 =	0,2225	0,5437		0,2350	0,5282	
O_2 =	1,4581	3,5632	11,9440	1,6989	3,8190	13,3084
N_2 =	3,4295	8,3808		4,2214	9,4894	
Gas =	5,1101			6,1553		

[1]) Die O_2-Bestimmung misslang durch Bersten des Eudiometers bei der Explosion.

Versuch VI.

Am 28. März 1892 wurde Rohr A ausgepumpt und mit ausgekochtem Wasser gefüllt, am 29. März 11 Uhr oben geöffnet, unten über Quecksilber das Kochrohr No. 9 mit Wasser von Rohr A unten abgefüllt und ausgekocht. Rohr A oben offen, unten geschlossen 2 Wochen stehen gelassen.

Im Kochrohr No. 9 wurde durch Auskochen etc. erhalten:

		Berechnet für 1 Liter Wasser:
CO_2	= 0,00549 cbcm.	0,01211 cbcm.
O_2	= 0,03948 »	0,08715 »
N_2	= 0,19987 »	0,44112 »
	0,24484 cbcm.	0,54038 cbcm.

Während der 14 Tage, welche in Rohr A Wasser und Luft in Berührung standen, wurden folgende Barometer- und Thermometerstände beobachtet:

				Barometer:	Temperatur:
Den 29.	März	11 Uhr		751,7	11,5°
» 29.	»	5 »	30′	753,0	11,2°
» 30.	»	9 »	20′	754,0	10,3°
» 30.	»	4 »	30′	755,0	10,3°
» 31.	»	9 »	50′	761,0	10,1°
» 31.	»	4 »	30′	761,0	10,5°
» 1.	April	10 »	10′	761,0	10,4°
» 1.	»	5 »	10′	758,0	10,6°
» 2.	»	10 »	5′	758,0	10,8°
» 2.	»	4 »	15′	755,0	11,3°
» 3.	»	10 »	30′	756,0	11,6°
» 4.	»	10 »	15′	755,6	12,1°
» 4.	»	4 »	55′	752,8	12,4°
» 5.	»	10 »		752,3	12,6°
» 5.	»	3 »	45′	750,0	12,8°
» 6.	»	9 »	35′	748,5	13,0°
» 6.	»	4 »	15′	745,7	13,2°
» 7.	»	10 »	35′	746,0	13,5°
» 7.	»	4 »	20′	743,2	14,1°
» 8.	»	9 »	50′	746,0	14,1°
» 9.	»	10 »	10′	750,0	14,4°
» 9.	»	4 »	50′	748,9	14,6°
» 10.	»	10 »		751,0	14,4°
» 11.	»	10 »		749,0	14,4°
» 11.	»	4 »		746,5	14,5°
» 12.	»	11 »		745,0	14,6°

Am 12. April Vormittags 11 Uhr wurden die Kochröhren No. 9, 10, 11, 12 in dieser Reihenfolge über Quecksilber aus dem Rohr A unten abgefüllt und alsbald ausgekocht. Es wurden bei der Analyse der erhaltenen Gase folgende Quantitäten erhalten:

		In Rohr No. 9:	Berechnet für 1 Liter Wasser:	In Rohr No. 10:	Berechnet für 1 Liter Wasser:
CO_2	=	0,06695 cbcm.	0,1477 cbcm.	0,02141 cbcm.	0,0490 cbcm.
O_2	=	1,72968 »	3,8175 »	1,69839 »	3,8918 »
N_2	=	3,97791 »	8,7794 »	3,90181 »	8,9410 »
Gas	=	5,77454 cbcm.	12,7446 cbcm.	5,62161 cbcm.	12,8818 cbcm.

		In Rohr No. 11:	Berechnet für 1 Liter Wasser:	In Rohr No. 12:	Berechnet für 1 Liter Wasser:
CO_2	=	0,02970 cbcm.	0,0725 cbcm.	0,02913 cbcm.	0,0655 cbcm.
O_2	=	1,54600 »	3,7782 »	1,75546 »	3,9462 »
N_2	=	3,69622 »	9,0326 »	4,10197 »	9,2210 »
		5,27192 cbcm.	12,8833 cbcm.	5,88656 cbcm.	13,2327 cbcm.

Der erste Versuch blieb in mehreren Beziehungen sehr unvollkommen. Das Rohr A war mit sehr heissem ausgekochten Wasser gefüllt, blieb aber gleich von der Füllung an oben offen. Der Versuch wurde $2^2/_3$ Tage oder $64^1/_4$ Stunden nach der Füllung durch Entnahme der Wasserportionen abgeschlossen. Der Gehalt an Gasen in dem Wasser in Rohr A am Anfang des Versuchs war nicht untersucht. Wird dieser letztere Gehalt (was ohne wesentliche Fehler geschehen kann) vernachlässigt, so war in diesem Versuche in 2,67 Tagen in in die unten aus Rohr A abgelassenen Wasserportionen übergegangen aus der Luft durch die Wasseroberfläche 70 cm. tief:

O_2	=	1,2948 cbcm.
N_2	=	3,3260 »
$O_2 + N_2$	=	4,6208 cbcm.

Berechnet für 1 Tag ergibt dies eine Wanderung 70 cm. tief von 0,485 cbcm. O_2, 1,246 cbcm. N_2, zusammen 1,731 cbcm. $O_2 + N_2$.

In den übrigen Versuchen ist am Anfange der Gehalt des erkalteten Wassers an den einzelnen Gasen bestimmt. Die erhaltenen Werthe sind sehr kleine, bei denen grosse Genauigkeit nicht wohl erwartet werden kann; ihre Ueber-

führung in hohe Eudiometer war nicht ohne Schwierigkeiten ausführbar, dennoch zeigt die Uebereinstimmung der Mehrzahl derselben, dass die Abweichung in dem relativen O_2- und N_2-Gehalte gegenüber dem gewöhnlichen Absorptionsverhältniss dieser Gase im Wasser wohl nicht auf Zufall beruht.

Es wurden gefunden, berechnet für 1 Liter Wasser, in den Versuchen:

Tabelle I.

Versuch:	II.	III.	IV.	V.	VI.	Mittel von III bis VI.
CO_2	—	0,1598	0,0356	0.2233	0,0121	—
O_2	0,4720	0,2480	0,0947	0,1064	0,0872	0,1341
N_2	0,7653	1,0410	0,5533	0,4083	0,4411	0,6109
$O_2 + N_2$ . .	1,2373	1,2890	0,6480	0,5147	0,5283	0,7450

Es ist in den Gasen, welche am Anfang der Versuche im Wasser gefunden sind, der Stickstoffgehalt relativ zu dem Sauerstoffgehalt übereinstimmend sehr hoch. Beim Eintreten des heissen Wassers in das Rohr A am Anfang der Versuche schlägt sich Wasser in Tropfen an der inneren Oberfläche der Wandung nieder; während des Einströmens erhöht sich die Spannung der Sauerstoff- und Stickstoffmoleküle, welche bei dem unvollständigen Evacuiren des Rohrs A in demselben zurückgeblieben sind. Ob nun diese Verhältnisse im Anfang der Versuche eine reichlichere Aufnahme von Stickstoff bedingen, können wir dahingestellt sein lassen, weil es für die Zwecke der Versuche nur darauf ankam, festzustellen, wie viel von jedem der Gase bereits im Anfang vor Zutritt der atm. Luft zur Oberfläche des erkalteten Wassers vorhanden gewesen sind. Es ist jedoch die Beobachtung von Pettersson und Sondén[1]) und Anderen, dass mit Erhebung der Temperatur der Werth $\frac{100 \cdot O_2}{O_2 + N_2}$ für die im Wasser absorbirten Gasvolumina abnimmt, in guter Uebereinstimmung mit der Erklärung der obigen Verhältnisse.

[1]) Ber. d. chem. Gesellsch., Bd. 22, S. 1443.

Werden nun die in den obigen Versuchen im Anfang gefundenen Gehalte an den einzelnen Gasen von den am Ende der Versuche vorgefundenen Werthen in Abzug gebracht, so ergeben sich die Quantitäten der in der Versuchszeit eingeströmten und bis zu der bestimmten Tiefe eingewanderten Bestandtheile der atm. Luft. Die folgende Tabelle II gibt diese Werthe berechnet für 1 Liter Wasser und bezogen auf die in den einzelnen Kochröhren vorgefundenen Gasmengen in Cubikcentimetern.

Tabelle II.

Versuch No.	Rohr No.	CO_2.	O_2.	N_2.	$O_2 + N_2$.	Dauer des Versuchs.
II.	9	0,177	1,178	4,0317	5,2097	4 Tage
	10	0,170	1,244	2,9227	4,1667	
III.	9	—	2,467	5,029	7,496	7 Tage
	10	—	2,454	4,879	7,333	
IV.	9	0,0179	1,9069	3,8267	5,7336	5 Tage
	10	0,0698	2,0068	3,5447	5,5515	
	11	0,0098	2,0650	4,2277	6,2927	
	12	—	2,1706	4,1940	6,3646	
V.	9	0,1974	?	?	11,3575	14 Tage
	10	0,4987	3,4556	7,9137	11,3693	
	11	0,3204	3,4568	7,9725	11,4293	
	12	0,3049	3,7126	9,0811	12,7937	
VI.	9	0,1356	3,7303	8,3383	12,0686	14 Tage
	10	0,0369	3,8046	8,4999	12,3045	
	11	0,0604	3,6910	8,5915	12,2825	
	12	0,0534	3,8590	8,7799	12,6389	

An einem weissen Papierstreifen, der an das Rohr A der Länge nach angeklebt ist, sind bei den einzelnen Versuchen die Stände des Wasserniveaus am Anfang, dann nach Ablassen des Wassers zur Füllung des Rohrs No. 9, ferner nach Füllung von No. 10 und endlich der sämmtlichen 4 Kochröhren angezeichnet und dann die Höhen ausgemessen dieser Niveaustände über der Stelle des oberen Eingangs aus dem Rohr A in das unten angeschmolzene Ansatzröhrchen von 5 mm. innerem Durchmesser. Der anfängliche Niveaustand variirte bei den Versuchen von 97,7 bis 97,0 cm. über dieser Stelle. Nach Ablassung

der Füllung von Rohr No. 9 fiel das Niveau auf 84 cm. über dem bezeichneten Fusspunkt, nach Füllung von No. 9 und 10 auf 70 bis 70,9 cm., nach Füllung aller 4 Röhren auf 46 bis 45 cm.

Aus dem Volumeninhalt der Röhren und der Zunahme von CO_2, O_2 und N_2 in der Volumeneinheit des Wassers während des Versuchs ist dann zu bestimmen, welche Quantitäten CO_2, O_2, N_2 während der Versuchsdauer durch diese Querschnitte des Rohrs von 84, von 70,5 und von 45,5 cm. unter der ursprünglichen Wasseroberfläche hindurch gewandert sind.

Diese Rechnung ist allerdings mit einem Fehler behaftet, insofern bei der Füllung der einzelnen Kochröhren stets etwas Wasser verloren geht, da man bei der Anfügung des oberen

Ta[illegible]

Versuchs-No.	Dauer des Versuchs in Tagen.	Es sind Gase (in Cubikcentimetern) hi[illegible]					
		unter 84 cm. Höhe:			von 70,5 bis 84 cm. Höhe:		
		Inhalt von Rohr 9			Inhalt von Rohr 10		
		O_2	N_2	$O_2 + N_2$	O_2	N_2	O_2 + [illegible]
II	4	0,5337	1,8267	2,3604	0,4992	1,2754	1,7[illegible]
IV	5	0,8640	1,7338	2,5978	0,8757	1,5469	2,[illegible]
III	7	1,1178	2,2786	3,3964	1,0709	2,1292	3,[illegible]
V	14	—	—	5,1460	1,5080	3,4534	4,[illegible]
VI	14	1,6902	3,7780	5,4682	1,6603	3,7093	5,[illegible]

Ein Blick auf diese Tabelle und auf Tabelle II oben zeigt, dass die letztabgelassene, nämlich die in Rohr No. 12 aufgenommene und ausgekochte Portion einen höheren $O_2 + N_2$-Gehalt besitzt als die drei übrigen; die letzteren unterscheiden sich in dieser Hinsicht nicht wesentlich.

Es ist nun von Interesse, zu berechnen, welche Gasquantitäten von der 33,17 □cm. betragenden Oberfläche des

Ta[illegible]

Versuchs-No.	Dauer des Versuchs.	Täglich eingetretene Gasquantit[illegible]					
		in die Tiefe von 70,5 cm. unter der Oberfläche [illegible]					
		Rohr 9 + 10			Berechnet für 1 □Met. Ober[illegible]		
		O_2	N_2	$O_2 + N_2$	O_2	N_2	O_2 + [illegible]
II	in 4 Tagen	0,2582	0,7755	1,0337	77,85	233,81	311[illegible]
IV	in 5 Tagen, täglich	0,3480	0,6561	1,0040	104,91	197,81	30[illegible]
III	für 6. u. 7. Tag, tägl.	0,2245	0,5630	0,7880	67,69	169,74	237[illegible]
V	für 6.—14. Tag, tägl.	—	—	0,5652	—	—	17[illegible]
VI	für 6.—14. Tag, tägl.	0,1790	0,4674	0,6464	53,97	140,92	19[illegible]

Kautschukansatzstückes am Kochrohr an das mit Glashahn versehene Glasrohrstück, welches dem 30 cm. langen Kautschukrohr unten am Rohr A angefügt ist, stets etwas Wasser abfliessen lassen muss, um beide an einander zu fügende Röhren völlig frei von atm. Luft zu haben. Fügt man sie bei geschlossenem Glashahn und geschlossener Klemme am Kautschukrohr zusammen, so spritzt mit etwas Quecksilber auch etwas Wasser heraus. Diese Fehler sind jedoch so unbedeutend, dass sie unbedenklich vernachlässigt werden können.

Die folgende Tabelle III gibt in Cubikcentimetern die Gasvolumina an, welche während der Versuchsdauer durch die angegebenen Wasserschichten hindurch gegangen sind.

'andert von der Oberfläche in die Schichten des Wassers					
von 58 bis 70,5 cm. Höhe:			von 58 bis 45,5 cm. Höhe:		
Inhalt von Rohr 11			Inhalt von Rohr 12		
O_2	N_2	$O_2 + N_2$	O_2	N_2	$O_2 + N_2$
—	—	—	—	—	—
0,8450	1,7300	2,575	0,9656	1,8657	2,8313
—	—	—	—	—	—
1,4145	3,2430	4,6575	1,6516	4,0397	5,6913
1,5104	3,5157	5,0261	1,7167	3,9057	5,6224

Wassers absinkend durch die Schichten 70,5 cm. unterhalb derselben täglich hindurch gegangen sind, und zweitens, welche Gasquantitäten in Schicht 45,5 bis 70,5 cm. unter der Oberfläche täglich eingetreten sind. Diese Geschwindigkeiten werden übersichtlicher, wenn sie auf 1 Quadratmeter Oberfläche umgerechnet sind. Für diese Zwecke dient die Tabelle IV.

Cubikcentimetern 0° 760 mm. Druck						Im Ganzen durch die Ebene 45,5 cm. tief unter der Oberfläche hindurch gegangen für 1 □Meter Oberfläche.
in die Tiefe von 45,5 bis 70,5 cm. unter der Oberfläche.						
Rohr 11 + 12			Berechnet für 1 □Meter Oberfläche.			
O_2	N_2	$O_2 + N_2$	O_2	N_2	$O_2 + N_2$	
—	—	—	—	—	—	—
,3621	0,7191	1,0812	109,17	216,81	325,98	628,69
—	—	—	—	—	—	—
,1395	0,4097	0,5492	42,06	123,52	165,58	335,99
,1574	0,4251	0,5825	47,46	128,17	175,62	370,51

Aus der Tabelle IV ergibt sich, dass die Quantitäten der einzelnen Gasarten, welche täglich abwärts wandern, im Verlaufe der Versuche stets abnehmen. Es verlangsamt sich die Geschwindigkeit recht erheblich. Wenn man auch nicht wohl zweifeln kann, dass diese Abnahme der Geschwindigkeit in Beziehung steht zu dem Grade der Sättigung, die in den Wasserschichten für die einzelnen Gase bereits erreicht ist, wird hiermit doch der Vorgang, welcher dabei stattfindet, an sich nicht erklärt. Es kann durch Verdunstung an der Oberfläche eine Abkühlung entstehen, die oberste Schicht, welche am schnellsten die Gase aufnimmt, wird durch diese Gasaufnahme ihr spec. Gewicht erhöhen, noch mehr durch die Abkühlung; die spec. Gewichtszunahme wird bewirken, dass diese Schicht sich nach abwärts senkt. Wenn von einer Seite her eine, wenn auch schwache, doch andauernde, Erwärmung oder Abkühlung erfolgt (z. B. durch die 13 cm. entfernte Wand), wird auf- und absteigende Bewegung der Flüssigkeit eintreten. Je mehr die unteren Flüssigkeitsschichten mit den Gasen bereits gesättigt sind, desto weniger kann eine weitere Sättigung an der Oberfläche wirksam sein für die Abwärtsbewegung. Ebenso wird mit erhöhter Sättigung der Flüssigkeit der Spannungsunterschied der Gase an der Oberfläche gegen das Innere der Flüssigkeit abnehmen; auch wenn dieser Unterschied theilweise oder allein die Ursache der Bewegung der Gastheilchen sein sollte, würde eine allmälige Abnahme der Geschwindigkeit der Gaseinwanderung eintreten müssen.

Die Vergleichung des Gehaltes an Sauerstoff und ebenso an Stickstoff in den nach einander aus dem Rohr A entnommenen Wasserportionen, wie sie die Tabelle II übersichtlich gewährt, zeigt eine Uebereinstimmung bis auf geringe Schwankungen. Ohne Zweifel sind also während der Dauer der Versuche die Schichten der Flüssigkeit von 45,5 cm. unter der Oberfläche bis zum unteren Ende der Röhre A, indem sie täglich neue Gastheilchen fortdauernd von oben her erhalten haben, in gleichmässiger Weise mit denselben versehen. Diese Erscheinung spricht sehr entschieden gegen die Vermuthung,

dass die Gastheilchen entsprechend ihrem Partiardruck in der atm. Luft über der Oberfläche des Wassers in der ruhenden Wassermasse sich abwärts bewegten, sie stützt vielmehr die Ansicht, dass die in der Nähe der Oberfläche mit Gastheilchen beladenen Wasserschichten sich abwärts bewegen und sich mit den unteren Schichten mischen. Der Vorgang wird sonach der allmälig gleichmässig erfolgenden Vertheilung von löslichen Stoffen in Wasser, deren Lösungen höhere spec. Gewichte als das Wasser haben, entsprechen, wenn diese Stoffe langsam an der Oberfläche des Wassers in dasselbe eintreten. Bezüglich der Kohlensäure ist dieses Verhalten von Stefan bereits angegeben, doch gestatten die eigenthümlichen Verhältnisse dieses Gases nicht, dies ohne Weiteres als beweisend auch für andere Gase anzusehen.

Die bei den beschriebenen Versuchen in den einzelnen untersuchten Wasserportionen gefundenen CO_2-Quantitäten sind stets sehr gering, auch recht schwankend. Wie es schon Pettersson ausgesprochen hat, sind auf dem Wege des Auskochens kleine Mengen dieses Gases aus wässerigen Lösungen nicht quantitativ zu gewinnen. Wir haben uns auch überzeugt, dass die Zuhilfenahme der Quecksilberpumpe, welche die Gewinnung von Sauerstoff und Wasserstoff schnell und sicher ausführen lässt, die Ausbeute an CO_2 wohl sehr erleichtert und vergrössert, aber nicht zur vollständigen Entwickelung des letzten Antheils führt. Wir haben der CO_2 keine weitere Beachtung geschenkt; hätten wir sie nöthig gehabt, so würden die durch die Quecksilberpumpe in die Absorptionsröhren übergetriebenen Wasserquantitäten mit ihrem verschiedenen CO_2-Gehalte in Rechnung gezogen werden müssen; bezüglich des O_2 und N_2 durften wir dieselben als zu geringfügig vernachlässigen.

Die Ursache der grösseren Geschwindigkeit der Gasaufnahme in Versuch VI gegenüber dem gleich lange fortgesetzten Versuch V kann wohl allein die höhere Temperatur, besonders gegen das Ende des Versuchs, gewesen sein.

Nach den Bestimmungen von Pettersson und Sondén[1]) nimmt 1 Liter Wasser bei 760 mm. Druck und 14,1° bei seiner

[1]) A. a. O.

Sättigung mit atm. Luft 7,05 cbcm. O_2 und 14,16 cbcm. N_2 (gemessen bei 0° und 760 mm. Dr.) auf. Hiernach würde bei 745 mm. Druck eine Sättigung des Wassers mit diesen Gasen aus der Luft bei gleicher Temperatur durch 6,91 cbcm. O_2 und 13,88 cbcm. N_2 erfolgen. Der höchste Gehalt an O_2 und N_2 für ein Liter Wasser, welcher nach zweiwöchentlicher Exposition an freier Luft in einer Tiefe zwischen 45 und 58 cm. unter der Oberfläche in Versuch V im Rohr No. 12 gefunden ist, beträgt nur 3,819 cbcm. O_2 und 9,489 cbcm. N_2, in Versuch VI im Rohr No. 12 3,946 cbcm. O_2 und 9,221 cbcm. N_2 (berechnet für 0° und 760 mm. Dr.) für 1 Liter Wasser. Die Temperaturen am Ende von diesen Versuchen betrugen 11° und 14,6°, die Barometerstände 749 und 745 mm. Es fehlten also für die Sättigung noch 3,09 cbcm. O_2 und 4,39 cbcm. N_2 in Versuch V und 2,96 cbcm. O_2 und 4,66 cbcm. N_2 in Versuch VI.

Nach diesen Resultaten ist es nicht zweifelhaft, dass in grossen Wassertiefen im Meere und in Landseen entweder das Thierleben einen geringen Stoffumsatz bewirkt, also überhaupt unbedeutend ist, oder der Gasaustausch zwischen der Atmosphäre und grossen Wassertiefen durch andere Vorgänge unterhalten wird als durch die Diffusion der Gase im Wasser.

Strassburg, den 25. Juni 1892.

Beiträge zur Kenntniss der Respiration der Fische.

Von

C. Duncan und **F. Hoppe-Seyler.**

In Uebereinstimmung mit zahlreichen Erfahrungen über das Leben von Menschen und warmblütigen Thieren in grösseren Höhen über dem Meeresspiegel ist durch nicht wenige specielle Untersuchungen festgestellt, dass eine mässige Erniedrigung des Sauerstoffdruckes in der geathmeten Luft keine erhebliche Aenderung in den Functionen herbeiführt. Beschleunigung der Athembewegungen, eine geringe Verminderung der Quantität des in der Zeiteinheit aufgenommenen Sauerstoffs, auch leichte Ermüdung bei stärkeren Muskelanstrengungen sind die Erscheinungen, welche in grösseren Höhen über dem Meeresniveau, 2500 bis 4000 Meter Höhe, oder entsprechender Verminderung der Sauerstoffpressionen in Versuchen beobachtet sind[1]. Die Versuche an kaltblütigen Thieren, welche Luft athmen, Vertebraten wie Avertebraten, haben selbst bei viel weiter gehender Erniedrigung der Sauerstoffpression keine oder nur geringe Veränderung der Functionen ergeben.

Ueber das Verhalten der mit Kiemen in Wasser athmenden Thiere liegen für die Beurtheilung dieser Einflüsse relativ wenige Untersuchungen vor; unter denselben aber eine umfassende

[1] Es kommen hier in Betracht Arbeiten von Bert, Friedländer u. Herter, Kempner u. Herter, Fränkel u. Geppert, Speck u. A. Dieselben sind eingehend besprochen von Speck, Zeitschr. f. klin. Medicin, Bd. XII, Heft 5 u. 6, 1887.

Experimental-Untersuchung von Jolyet und Regnard[1]), auf deren Ergebnisse hier eingegangen werden muss.

Das Athmen der Fische ist ein insofern recht vollkommener mechanischer Vorgang in Vergleich mit der Respiration der Luft athmenden Thiere, als innerhalb der Respirationsorgane kein schädlicher Raum vorhanden ist, wie er sich in den Apparaten der Luft athmenden Thiere bekanntlich allgemein findet. So verschieden die Kiemen bei den einzelnen Familien der Fische gestaltet erscheinen, geht doch bei allen Fischen, so lange sie respiriren, ein Wasserstrom vom Munde aufgenommen zwischen den Kiemenblättern hindurch und bringt stets neue Wasserportionen in die grösste Nähe des feinen Capillarnetzes, welches dieselben enthalten. Bei vielen Avertebraten ist die Kiemenathmung häufig, wie bei den Krebsen, mit einer fächelnden oder strudelnden Bewegung der Kiemenblätter oder Borsten verbunden, bei den Cephalopoden eine Pumpenbewegung, Aufnahme des Wassers in die Höhlung des Mantels, nachherige Austreibung durch den Trichter; alle diese Bewegungen erneuern fortdauernd die Schichten des mit der Kiemenoberfläche in Berührung tretenden Wassers und dieser schnelle Wechsel der Wasserschichten erscheint um so nothwendiger, als einerseits die Quantität des im Wasser absorbirten Sauerstoffs auch bei völliger Sättigung für gewöhnlichen Luftdruck und niedere Temperatur mit atm. Luft eine recht geringe ist, andererseits die Diffusion der Gase im Wasser, wie wir durch die vorstehende Abhandlung erwiesen haben, eine ausserordentlich langsame ist. Ein Liter Luft enthält ungefähr 210 cbcm. Sauerstoff, ein Liter Wasser von 7° C., wenn es vollständig mit Luft gesättigt ist, enthält absorbirt nur 8 cbcm. Sauerstoff und mit Erhöhung der Temperatur immer weniger. Die Quantität Sauerstoff, welche von verschiedenen Fischarten unter günstigen Verhältnissen, bezogen auf 1 Kilo Körpergewicht, in einer Stunde aufgenommen wird, zeigt in den Versuchen von Jolyet und Regnard Schwankungen von 29 bis

[1]) F. Jolyet u. P. Regnard, Recherches sur la respiration des animaux aquatiques, Archives de physiologie norm. et path., 2 Sér., T. 4, p. 584, 1877.

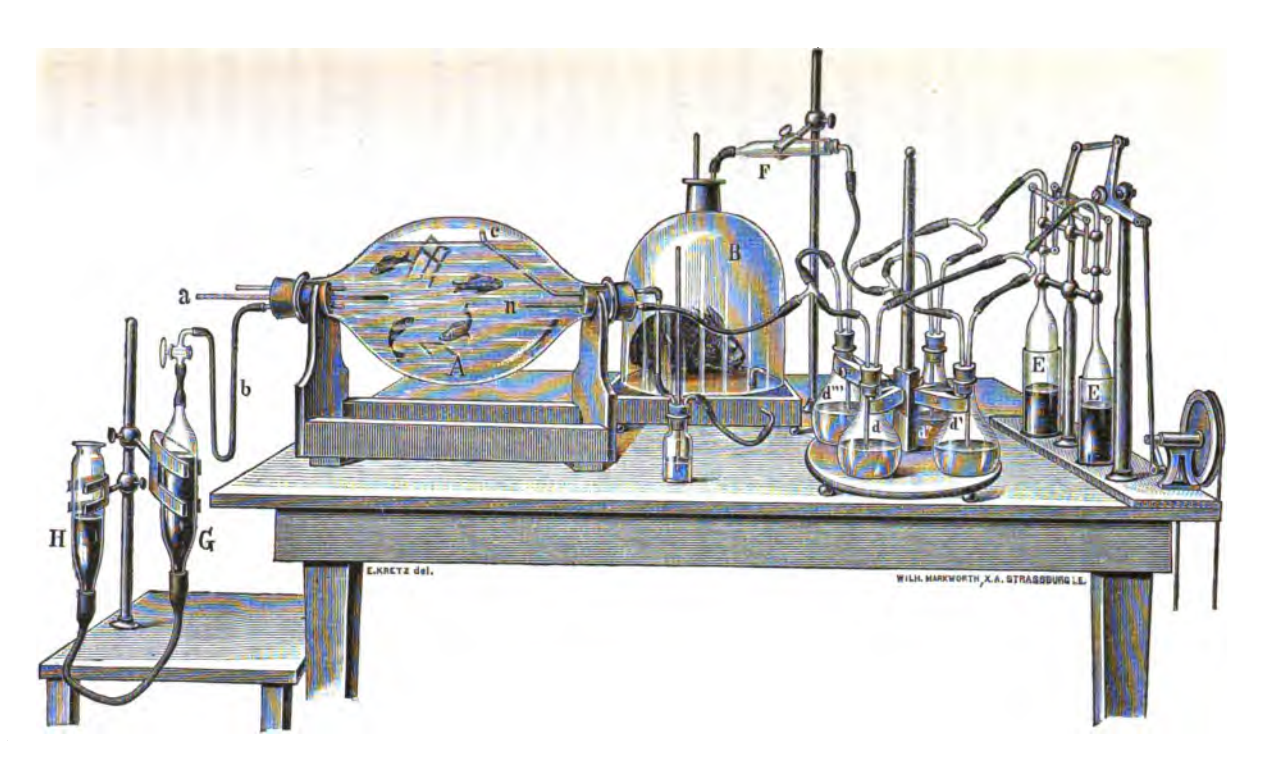
171 cbcm. Bei 7° C. entspricht diese Quantität dem gesammten Sauerstoffgehalt von 3,6 bis 21,4 Liter Wasser. In den meisten der erwähnten Versuche wurde der gesammte Sauerstoff von 5 bis 6 Liter Wasser (nach dieser Rechnung für 1 Kilo Körpergewicht) in einer Stunde verbraucht. Da nun bei dem Hindurchgehen durch die Kiemen nur ein Theil des durchströmenden Wassers mit der Kiemenoberfläche in nächsten Austausch tritt und ohne Zweifel nicht der ganze absorbirte Sauerstoff des durchgeführten Wassers in das Blut der Thiere aufgenommen wird, ist ersichtlich, dass sehr grosse Wassermassen die Kiemen der Fische passiren müssen, um ihnen diejenige Sauerstoffquantität zukommen zu lassen, welche nach den angeführten Versuchen in einer Stunde in ihren Organen zur Aufnahme und zur Oxydation gelangt.

Die Beobachtung des Verhaltens der Fische im freien Wasser oder in Aquarien, deren Wasser nicht genügend mit frischer Luft versehen wird, lässt leicht erkennen, dass bei ungenügender Lüftung dyspnoische Erscheinungen, nämlich Steigerung der Athemfrequenz und Tiefe der Athemzüge eintreten. Steigert man den Sauerstoffmangel, so werden die Thiere unruhig, ohne jedoch sich in gleicher Weise weiterhin zu verhalten, um ihre Lage zu verbessern. Fische, welche wie die Cyprinoiden ihre Nahrung im Schlamme am Boden zu suchen gewohnt sind, finden bei dieser Beschäftigung oft einen sehr geringen, auch nicht selten gar keinen Sauerstoffgehalt in dem Schlammwasser und den nahe darüber stehenden Wasserschichten. Sie wissen aber, dass an der Oberfläche Sauerstoff zu finden ist, kommen bei Mangel daran im Wasser oft an dieselbe und schlürfen mit ihrem fast rüsselförmig vorgestreckten Munde das Wasser unmittelbar an der Oberfläche. Andere Fische, und zwar Raubfische wie die Forellen, verhalten sich anders. Enthält das Wasser wenig Sauerstoff, so respiriren sie auch schneller und tiefer, schnappen dann heftig mit dem plötzlich weit geöffneten Maul, werfen sich wild im Wasser herum, springen in die Luft, wenn es angeht, suchen aber nicht sauerstoffhaltiges Wasser an der Oberfläche. Cobitis fossilis athmet bei Verminderung des Sauerstoffgehaltes im

Wasser schneller; ist jedoch dasselbe sehr arm an Sauerstoff, so kommt dieser Fisch von Zeit zu Zeit an die Oberfläche, schluckt Luft in den Darm und liegt dann in der Zwischenzeit am Boden, kaum die Kiemen bewegend, indem er den Sauerstoff der hinabgeschluckten Luft verbraucht.

Die Versuche, welche wir im Folgenden schildern, sind speciell mit Rücksicht auf Tiefsee-Erforschung zu dem Zweck ausgeführt, zu erfahren, wie weit der Sauerstoffgehalt des Wassers, in dem die Fische sich befinden, erniedrigt werden kann, ohne dass erhebliche Störungen in der Respiration und im sonstigen Verhalten der Thiere beobachtet wird. Es wurden für dieselben Schleien (Tinca vulgaris) und Bachforellen gewählt. Die Forellen befanden sich während der Zwischenzeit zwischen den Versuchen in fliessendem Wasserleitungswasser des physiologisch-chemischen Instituts in einer hölzernen Wanne und erhielten sich mehrere Wochen anscheinend gesund und kräftig. Die Schleien blieben mehrere Monate in ruhendem Wasserleitungswasser, welches täglich gewechselt wurde, offenbar völlig gesund.

Bei den Versuchen wurden die Fische in Wasserleitungswasser eingebracht in dem gläsernen, elliptischen Wasserbehälter A, wie ihn der Holzschnitt unten darstellt. Dieses Gefäss, 15 Liter fassend, wurde stets bis auf einen Luftraum von ungefähr 200 cbcm. mit Wasser gefüllt. Die beiden je 6 cm. im Durchmesser haltenden Oeffnungen waren mit Kautschukstopfen geschlossen, welche 3 Bohrungen haben. Auf der linken Seite ist durch die mittlere Bohrung das Thermometer a eingebracht, durch die beiden anderen Bohrungen sind Glasröhren gesteckt, von denen die eine mit Kautschukschlauchstück und Glasstopfen geschlossen, die andere mit dem Kautschukschlauch b verbunden und während der Versuche gleichfalls geschlossen ist. Beide Röhren dienen zum Zu- und Ableiten von Wasser vor oder nach den Versuchen. In den Bohrungen des Kautschukstopfens rechts befindet sich in der Mitte ein abschliessender Glasstab, in den seitlichen Bohrungen die Glasröhre n, durch welche Luft eingepresst, und das Rohr c, durch welches Luft abgesaugt wird während der Versuche.


a
b
c
n
A
B
F
d
d'
d'''
E
E
H
G
E.KRETZ del.
WILH. MARKWORTH, X.A. STRASSBURG I.E.

Die Abbildung stellt die Vereinigung des Fischbehälters A mit einem kleinen in der Abbildung nicht bezeichneten Fläschchen mit dreifach durchbohrtem Kauschukstopfen dar, das Fläschchen ist andererseits verbunden mit einer Glasglocke auf abgeschliffener Platte, unter der Glocke ein Kaninchen; ferner folgt die Verbindung mit 4 Waschflaschen, jede halb gefüllt mit 100 cbcm. Kalilauge von 1,27 spec. Gew., und mit einem Pumpwerk, hergestellt aus 2 Cylindergläsern, die unten weit offen, oben in Röhren ausgezogen in Quecksilber auf- und abgetrieben werden durch das dargestellte Hebelwerk, dessen Bewegung erhalten wird durch einen kleinen Wassermotor von Schmid in Zürich.

Für die einzelnen zu schildernden Versuche wurden nicht stets alle die in der Abbildung dargestellten Apparate verwendet.

Bei der Versuchsanordnung I blieben die Fische in dem Behälter A eingeschlossen, der mit frischem Wasser gefüllt war bis auf den kleinen Luftraum. Andere Apparate waren nicht angefügt, eine Lüftung des Wassers während der Dauer der Versuche fand nicht statt. Es durfte angenommen werden, dass auch in dem Falle, dass die Fische mehr CO_2 ausschieden, als sie Sauerstoff aus dem Wasser aufnahmen, eine irgend in Rechnung zu nehmende Steigerung der Kohlensäurepression nicht eintreten konnte, weil besonders bei den herrschenden niedrigen Temperaturen der hohe Absorptionscoefficient der CO_2 für Wasser eine wesentliche Erhöhung dieser Pression nicht entstehen lassen konnte.

In einigen anderen Versuchen, Versuchsanordnung II, wurden die dem Fischbehälter A rechts angefügten Röhren c und n mittelst genügend langer Kautschukschläuche mit einer Flasche von 3 Liter Inhalt, die halb mit Wasser gefüllt war, verbunden. Ein Rohr, welches durch den Stopfen der Flasche bis in die Nähe des Bodens reichte, wurde mit dem Rohr n, und ein ganz kurzes, nur durch den Stopfen hindurch tretendes Rohr mit dem Glasrohr n verbunden. Wurde die Flasche (die auf der Abbildung nicht dargestellt ist) erhoben, so floss Wasser aus ihr nach A und dafür die Luft oben aus A in die Flasche. Wurde dann die Flasche wieder gesenkt, so floss

Wasser aus A durch n nach dieser Flasche hinüber, während Luft aus letzterer nach A durch c hinüber strömte. In dieser Flasche wurde oftmals Luft und Wasser zusammengeschüttelt.

Bei der Versuchsanordnung III war der Fischbehälter A mit den Kalilauge enthaltenden Wasserflaschen, der Pumpe und der kleinen (nicht bezeichneten) Flasche verbunden. Bei der Bewegung der Cylinder in E E auf- und abwärts wurde Luft durch die Kalilauge, bald in Flasche d, bald durch d‴ in das Wasser des Fischbehälters A eingepresst und eine entsprechende Quantität Luft gleichzeitig andererseits durch Rohr c zunächst zu dem kleinen Fläschchen und von da abwechselnd durch die Kalilauge d′ oder d″ in die Pumpencylinder gesaugt. Das kleine Fläschchen ist mit dreifach durchbohrtem Stopfen geschlossen. In die beiden seitlichen Bohrungen waren kurz unter dem Stopfen in dem Luftraum des Fläschchens mündende Glasröhren eingesetzt; durch die mittlere Bohrung ging ein an beiden Enden offenes Rohr, welches im Fläschchen unter dem Wasserniveau mündete. In Folge des Sauerstoffverbrauchs durch die Fische musste der Sauerstoffdruck im ganzen System der im Uebrigen geschlossenen Apparate sinken. Entsprechend dieser Erniedrigung der Pression musste Luft durch das lange senkrechte Glasrohr und das Wasser in das Fläschchen und hiermit in die ganze sonst abgeschlossene, in dem Apparatensystem circulirende Luftmasse einströmen. Da nun der Sauerstoffdruckerniedrigung entsprechend nicht Sauerstoff, sondern atm. Luft eintrat, musste der Sauerstoffdruck fortdauernd abnehmen, während der summarische Gasdruck erhalten blieb.

Die Versuchsanordnung IV entspricht der Abbildung. Die durch die bewegte Pumpe angesaugte Luft trat durch Rohr c zu dem nicht bezeichneten Fläschchen, von da zu einem Kaninchen unter der Glasglocke B, welche auf abgeschliffener Glasplatte luftdicht aufgesetzt war. Von hier strömte die Luft oben zu dem Rohr F, welches nur Luft enthielt, und von da abwechselnd zur Kaliflasche d′ oder d″, dann in E E ein, wurde dann bei Niedergehen der Cylinder in E E abwechselnd durch d oder d‴ durch die Kalilauge

gepresst und dann durch Rohr n in das Wasser des Fischbehälters A, um hier das Wasser mit Sauerstoff zu versehen, im Uebrigen aufzusteigen und durch c die Circulation abermals zu beginnen.

In den Kaliflaschen musste die Luft bei dieser Bewegung stets zweimal durch die Kalilauge hindurch wandern und ihren CO_2-Gehalt abgeben.

Am Ende jedes Versuchs wurde, wenn das Rohr F benutzt war, dasselbe beiderseits durch Klemmen, die auf die Kautschukschläuche gesetzt und geschlossen wurden, abgesperrt, die enthaltene Luftprobe in der Quecksilberwanne über Quecksilber in ein Absorptionsrohr übergefüllt und analysirt. Dann wurden am Schluss jedes Versuchs stets 2 Röhren in der Gestalt und Anfügung von G von 400 bis 500 cbcm. Inhalt erst mit Quecksilber gefüllt, mittelst Glashahn und Kautschukrohr b an den Behälter A angefügt, so dass keine Luftblase dazwischen kam. War dann der Quecksilberbehälter H tiefer gestellt und die Klemme oben und unten von G geöffnet, auch der Glashahn geöffnet, so wurde Rohr G unter Sinken des Quecksilbers und Abfliessen desselben nach H mit Wasser aus A gefüllt. Es wurde durch Klemmen oben und unten G abgeschlossen, abgenommen, ein zweites Rohr von 400 bis 500 cbcm. Inhalt in gleicher Weise erst mit Quecksilber, dann mit Wasser aus A gefüllt, abgeschlossen. In diesen beiden Röhren wurde durch Auskochen unter Anwendung einer kleinen Quecksilberpumpe[1]) das absorbirte Gas gewonnen und über Quecksilber gesammelt, dann gemessen und nach Bunsen's Methoden mittelst Natronlauge die CO_2, dann durch Explosion mit Wasserstoffgas der Sauerstoffgehalt bestimmt.

Die Einschaltung des Kaninchens hatte den doppelten Zweck, 1. durch das relativ viel Sauerstoff consumirende warmblütige Thier die Sauerstoffarmuth schneller herbeizuführen, als es durch die Fische allein erreicht werden konnte, 2. bei ungefähr gleicher Sauerstofftension in Luft und Wasser, wie sie bei der gewählten Versuchsanordnung sich einstellen musste,

---

[1]) Der hierfür benutzte Apparat ist Zeitschr. f. analyt. Chemie, 1892, XXXI. Jahrg., Heft 4, S. 367 abgebildet und beschrieben.

die Einwirkung der Erniedrigung der Sauerstofftension auf den Warmblüter und die Fische vergleichen zu können.

Versuch I. 1. December 1891. Es wurden 5 Schleien in den Fischbehälter A gebracht und nach der Versuchsanordnung III (vergl. oben) 5 Stunden 50 Min. erhalten, während durch die Pumpe E E fortdauernd die Circulation der Luft, Befreiung derselben von CO_2 und Ersatz des verbrauchten Sauerstoffs durch atm. Luft in Thätigkeit blieb. Am Ende des Versuchs Temperatur im Apparat 10,9°, Barometer 756,3 mm. Das Befinden der Fische blieb bis an das Ende des Versuchs ein normales. In den abgenommenen Wasserportionen fanden sich in 1 Liter Wasser:

im ersten Rohr absorbirt O_2 3,44 cbcm., im zweiten Rohr O_2 2,86 cbcm.
» » » » N_2 15,52 » » » » N_2 14,27 »

Versuch II. 4. December 1891. 13 Stunden lang 5 Schleien nach Versuchsanordnung III behandelt. Temperatur 7,9° Anfangs, 12,25° Ende des Versuchs. Barometer 759,0 mm. Die Fische waren am Ende etwas weniger ruhig und kamen hier und da an die Oberfläche. In den abgenommenen Wasserproben gefunden für 1 Liter Wasser:

im ersten Kochrohr O_2 3,78 cbcm., im zweiten Rohr O_2 3,53 cbcm.
» » » N_2 14,71 » » » » N_2 14,90 »

Versuch III. 7.—8. December 1891. 22 Stunden lang, Versuchsanordnung III. 5 Schleien. Temperatur im Fischbehälter A Anfangs 9,5°, am Ende 13,0°. Barometer 757,0 mm. Die Fische waren am Ende lebhaft, kamen oft an die Oberfläche. In der ersten Wasserportion wurden für 1 Liter Wasser gefunden absorbirt O_2 3,13 cbcm. und N_2 14,69 cbcm. Die Bestimmung der Gase im zweiten Kochrohr ging verloren.

Versuch IV. 12. December 1891. Von 8 Uhr Morgens bis $10^1/_2$ Uhr Abends ($14^1/_2$ Stunden) 5 Schleien im Wasserbehälter A nach Versuchsanordnung II, eine 3 Literflasche mit dem Behälter A verbunden, oftmals das Wasser hin und her gehen lassen und das Wasser in der Flasche mit Luft geschüttelt. Am Ende des Versuchs Temperatur 11,5°, Barometer 755,0 mm. Die Fische athmen am Ende sehr heftig und bleiben an der

Oberfläche. Von den abgenommenen Wasserproben ergab die erste für 1 Liter Wasser berechnet:

O_2 0,138 cbcm., die zweite 0,385 cbcm.
N_2 15,610 » » » 15,989 »

In dem Rohr F war am Ende eine Luftprobe abgeschlossen von der Zusammensetzung:

CO_2 2,056 Vol.-%.
O_2 7,466 »
N_2 90,478 »

Versuch V. Am 14.—15. December 1891 Morgens, 19 Stunden lang nach Versuchsanordnung II. 5 Schleien in Behälter A. Die Glasflasche weniger oft geschüttelt und auf und nieder bewegt als in Versuch IV. Temperatur 13,0°, Barometer 754,0 mm. Die Fische blieben in der letzten Zeit heftig athmend an der Oberfläche. Die erste abgenommene Wasserprobe ergab für 1 Liter Wasser:

O_2 0,269 cbcm., die zweite O_2 0,264 cbcm.
N_2 14,930 » » » N_2 15,320 »

Die in F am Ende des Versuchs eingeschlossene Luftprobe enthielt:

CO_2 0,800 Vol.-%.
O_2 8,628 »
N_2 90,572 »

Versuch VI. 17.—18. December 1891. Dauer des Versuchs 20 Stunden. Im Behälter A 5 Schleien. Versuchsanordnung I mit ziemlich grossem Luftraum. Temperatur 11,0°, Barometer 764,0 mm. In der abgenommenen Wasserportion gefunden für 1 Liter Wasser:

O_2 4,033 cbcm.
N_2 16,964 »

Die Fische waren am Ende alle an der Oberfläche.

Versuch VII. 21. December 1891. Dauer 11 Stunden 45 Min. Im Behälter A 5 Schleien. Versuchsanordnung I mit kleinem Luftraum. Temperatur am Ende 5,8°, Barometer 767,0 mm. Am Ende des Versuchs liegen die Fische ganz matt auf der Seite, erholen sich nachher herausgenommen langsam. Es wurden gefunden in der ersten abgenommenen Wasserportion für 1 Liter Wasser berechnet:

O_2 0,000 cbcm., in der zweiten Portion O_2 0,073 cbcm.
N_2 17,730 » » » » » N_2 17,440 »

Versuch VIII. 25.—26. December 1891. Dauer des Versuchs 20 Stunden. Versuchsanordnung I. 5 Schleien. Temperatur am Ende 10°, Barometer 757,0 mm. Die Fische am Ende sehr matt, aber lebend. In den abgenommenen Wasserportionen für 1 Liter Wasser berechnet:

in der ersten Portion O_2 0,000 cbcm., in der zweiten O_2 0,000 cbcm.
» » » » N_2 16,590 » » » » N_2 16,430 »

Versuch IX. 5. Januar 1892. Dauer des Versuchs 4 Stunden. Versuchsanordnung IV. Im Behälter A 4 Schleien, in der Glasglocke B ein Kaninchen. Temperatur am Ende des Versuchs 7,7°, Barometer 741,0 mm. Das Kaninchen in hochgradiger Suffocation liegend, die Fische sehr stark respirirend, an der Oberfläche. In der ersten am Ende abgenommenen Wasserportion für 1 Liter Wasser berechnet:

O_2 0,708 cbcm., in der zweiten Portion O_2 0,0006 cbcm.
N_2 18,260 » » » » » N_2 19,800 »

In der Luftprobe in Rohr F:

CO_2 1,044 Vol.-%.
O_2 0,615 »
N_2 98,341 »

Versuch X. Am 11.—12. Januar 1892. Dauer des Versuchs 14 Stunden. Versuchsanordnung I. 24 grosse Flusskrebse anscheinend kräftig und gesund im Behälter A. Temperatur am Ende des Versuchs 7,5°, Barometer 749,0 mm. Am Ende des Versuchs waren 12 Krebse todt, mehrere ausserdem sehr matt und starben bald, obwohl nach dem Herausnehmen sogleich in gutes Wasser bei frischer Lüftung gebracht. In der ersten abgenommenen Wasserportion für 1 Liter Wasser berechnet:

O_2 0,088 cbcm., in der zweiten O_2 0,344 cbcm.
N_2 16,610 » » » » N_2 16,676 »

Versuch XI. Am 14. Januar 1892. Im Fischbehälter A 5 Forellen. Versuchsanordnung IV, 1 Kaninchen in Glocke B. Dauer des Versuchs 1½ Stunde. Temperatur am Ende 7,0°, Barometer 734,0 mm. Die Forellen sind am Ende des Versuchs sehr lebhaft und leidend, rapide Respiration. Das Kaninchen

ist wohl. In der ersten abgenommenen Wasserportion für 1 Liter Wasser berechnet:

O_2 1,219 cbcm., in der zweiten O_2 1,408 cbcm.
N_2 17,860 » » » » N_2 16,760 »

In der Luftprobe in Rohr F gefunden:

CO_2 0,193 Vol.-%.
O_2 11,067 »
N_2 88,740 »

Versuch XII. 15. Januar 1892. Dauer des Versuchs 2 Stunden 2 Minuten. 2 Forellen und 1 Kaninchen. Versuchsanordnung IV. Temperatur am Ende des Versuchs 7,5°, Barometer 738,8 mm. Das Kaninchen hatte am Ende starke Dyspnöe, sass aber aufrecht. Die Forellen athmeten schliesslich heftig, waren sehr unruhig, lagen aber nicht auf der Seite. In der ersten abgenommenen Wasserportion für 1 Liter Wasser berechnet:

O_2 1,647 cbcm., in der zweiten Wasserportion O_2 1,710 cbcm.
N_2 17,480 » » » » » N_2 17,744 »

In der Luftprobe in Rohr F gefunden:

CO_2 0,424 Vol.-%.
O_2 5,468 »
N_2 94,108 »

Versuch XIII. Am 27. Januar 1892. Dauer des Versuchs 2 Stunden. Versuchsanordnung IV. 2 Forellen im Behälter A, 1 Kaninchen in der Glasglocke B. Am Ende des Versuchs Temperatur in A 8,0°, Barometer 753,0 mm. Die Fische liegen am Ende des Versuchs auf der Seite und sind sehr schwach. Das Kaninchen zeigt hochgradige Dyspnöe. In der ersten abgenommenen Wasserportion für 1 Liter Wasser berechnet:

O_2 1,067 cbcm., in der zweiten Portion O_2 1,216 cbcm.
N_2 18,455 » » » » » N_2 17,670 »

In der Luftprobe in Rohr F:

CO_2 1,602 Vol.-%.
O_2 3,142 »
N_2 95,256 »

Versuch XIV. 3. Februar 1892. Dauer des Versuchs 1½ Stunde. Im Behälter A 5 Forellen, in Glasglocke B

1 Kaninchen. Versuchsanordnung IV. Temperatur am Ende des Versuchs 7,5°, Barometer 736,0 mm. Die Fische liegen auf der Seite und sind matt. In der ersten Wasserportion für 1 Liter Wasser berechnet:

O_2 1,450 cbcm., in der zweiten Wasserportion O_2 1,089 cbcm.
N_2 17,049 » » » » » N_2 17,148 »

In der Luftprobe in Rohr F:

CO_2 0,907 Vol.-%.
O_2 10,186 »
N_2 88,907 »

Versuch XV. 12. Februar 1892. Dauer des Versuchs 2¼ Stunden. Versuchsanordnung IV. Im Behälter A 4 Forellen, in der Glasglocke 1 Kaninchen. Temperatur am Ende des Versuchs 7,5°, Barometer 762,0 mm. Die Fische sind am Ende sehr lebhaft, sehr verstärkte Respiration. In der ersten abgenommenen Wasserportion für 1 Liter Wasser berechnet:

O_2 0,985 cbcm., in der zweiten O_2 0,794 cbcm.
N_2 18,264 » » » » N_2 18,415 »

In der Luftprobe in Rohr F gefunden:

CO_2 1,603 Vol.-%.
O_2 3,223 »
N_2 95,174 »

Die Vergleichung der Ergebnisse dieser Versuche lässt deutlich den Zusammenhang des Befindens der Fische mit dem Sauerstoffgehalt des Wassers erkennen. Zur besseren Uebersicht dieser Verhältnisse sind in der folgenden Tabelle die einzelnen Versuche und ihre Ergebnisse nach den in den am Ende der Versuche abgenommenen Wasserportionen gefundenen Sauerstoffquantitäten (berechnet für 1 Liter Wasser und bei 0° und 760 mm. Druck in Cubikcentimetern) geordnet verzeichnet. Da aus diesen relativen Quantitäten die Sauerstoffpressionen nicht ohne weitere Rechnung erkennbar, dieselben auch abhängig von der Temperatur des Wassers sind, sind dieselben für die am Ende der Versuche gefundenen Temperaturen berechnet unter Zugrundelegung einiger Bestimmungen von Winkler und von Pettersson und

Sondén[1]) für die Sättigung des Wassers mit atm. Luft bei Temperaturen, welche den hier in Betracht kommenden sehr nahe liegen. Nach dieser Berechnung enthält Wasser, welches bei den angegebenen Temperaturen mit atm. Luft gesättigt ist bei 760 mm. Druck, folgende Quantitäten Sauerstoff, gemessen bei 0° und 760 mm. Druck:

Temperatur:	O_2 in cbcm.:
5,65°	8,74
6,0°	8,28
7,0°	8,15
7,5°	8,09
7,7°	8,06
8,0°	8,03
10,0°	7,80
11,0°	7,63
11,5°	7,54
12,25°	7,40
13,0°	7,24.

Bezeichnet man diesen jedesmaligen Werth der Sauerstoffsättigung mit C, das im Wasser bei der zugehörigen Temperatur in den Versuchen gefundene Sauerstoffvolumen (0°, 760 mm. Dr.) mit V und rechnet den Procentgehalt an Sauerstoffgas in der Luft zu 21 Vol.-%, so ergeben die Werthe $D = \frac{V \cdot 21}{C}$ den Procentgehalt der atm. Luft an Sauerstoff, welcher gleiche Sauerstoffspannung hat, wie der Sauerstoff in Wasser in den einzelnen obigen Versuchen. Diese Werthe D sind für die ersten und zweiten am Ende der einzelnen Versuche abgenommenen Wasserportionen berechnet in besonderen Columnen in der Tabelle aufgenommen und zur Vergleichung der im Rohr F gefundenen Zusammensetzung der Luft zur Seite gestellt. War bei den Versuchen die Ausgleichung der Luft in der Pumpe, den Kaliflaschen, dem Luftraume im Behälter A und der Glasglocke B mit dem Wasser in A eine genügende, so mussten die berechneten Werthe D übereinstimmen mit dem in Rohr F bei dem betreffenden Versuche gefundenen Sauerstoffgehalt.

[1]) Ber. d. chem. Gesellsch., Bd. 22, S, 1439.

Versuchs-No.	Versuchsthiere.	Versuchsanordnung No.	Barometer.	Temperatur des Wassers.	Gehalt an Gasen in ccm. 0° 760 mm. Druck in einem Liter Wasser: in erster Portion O_2	in erster Portion N_2	in zweiter Portion O_2	in zweiter Portion N_2	Sauerstoffdrücke in Procenten einer Atmosphäre Werthe $D = \frac{V \cdot 21}{C}$ im Wasser: in Portion I.	in Portion II.	Sauerstoff-Vol.-Procente in der Luftprobe in Rohr F.	Befinden der Versuchsthiere.
VI	5 Tinca vulgaris	II	765,0	11,0°	4,033	16,964	—	—	11,10	—	—	Befinden sich wohl.
II	5 » »	III	759,0	12,25°	3,780	14,71	3,530	14,90	10,73	10,02	—	» » »
I	5 » »	III	756,3	10,9°	3,440	15,520	2,860	14,270	9,47	7,87	—	» » »
III	5 » »	III	757,0	13,0°	3,130	14,69	—	—	9,08	—	—	» » »
XII	2 Forellen, 1 Kaninchen	IV	738,8	7,5°	1,647	17,480	1,710	17,744	4,274	4,438	5,468	Forellen heftig athmend, sehr unruhig. Kaninchen starke Dyspnöe.
XIV	5 Forellen, 1 Kaninchen	IV	736,0	7,5°	1,450	17,049	1,089	17,148	3,76	2,82	10,186	Forellen leidend, liegen auf der Seite.
XI	5 Forellen, 1 Kaninchen	IV	734,0	7,0°	1,219	17,860	1,408	16,760	3,14	3,63	11,067	Forellen sehr schnell respirirend. sehr unruhig.
XIII	2 Forellen, 1 Kaninchen	IV	753,0	8,0°	1,067	18,455	1,216	17,670	2,79	3,18	3,142	Forellen liegen auf der Seite, sehr matt. Kaninchen starke Dyspnöe.
XV	4 Forellen, 1 Kaninchen	IV	762,0	7,5°	0,985	18,264	0,794	18,415	2,56	2,06	3,223	Forellen heftig athmend, sehr erregt.
IX	4 Tinca vulgaris, 1 Kaninchen	IV	741,0	7,7°	0,708	18,260	0,0006	19,800	1,84	0,016	0,617	Die Fische bleiben schnell respirirend an der Oberfläche. Kaninchen liegt in Suffocation da.
V	5 Tinca vulgaris	II	754,0	13,0°	0,269	14,930	0,264	15,320	0,78	0,73	8,628	Fische an der Oberfläche.
IV	5 Tinca vulgaris	II	755,0	11,5°	0,138	15,610	0,385	15,989	0,384	1,07	7,466	Fische heftig athmend an der Oberfl.
X	24 Astacus fluviatilis	I	749,0	7,5°	0,088	16,610	0,344	16,676	0,227	0,90	—	12 Krebse todt, die übrig. sehr matt.
VII	5 Tinca vulgaris	I	767,0	5,8°	0,000	17,730	0,073	17,440	—	—	—	Die Fische liegen ganz matt auf der Seite.
VIII	5 Tinca vulgaris	I	757,0	10,0°	0,000	16,590	0,000	16,430	—	—	—	

Die Tabelle ist in 3 Abtheilungen getheilt. Die erste umfasst die Sauerstoffgehalte des Wassers von 4 bis 3 cbcm. O_2 im Liter Wasser. Bei demselben befinden sich die Fische wohl, die Schleien liegen ruhig am Grunde, athmen ruhig; bei dem gleiche Sauerstoffspannung enthaltenden Gehalte der atm. Luft von 8 bis 11 Vol.-% O_2 zeigen auch warmblütige Thiere noch keine auffallende Dyspnöe.

Die zweite Gruppe der Versuche zeigt Sauerstoffgehalte im Wasser von 1,7 bis 0,8 cbcm. entsprechend der Tension des Sauerstoffs in der Luft, wenn dieselbe 2 bis 4,5 Vol.-% O_2 enthält. Bei diesen Versuchen sind allein Forellen und zugleich stets Kaninchen verwendet. In den Versuchen XII, XIII, XV stimmen die in der Luftprobe gefundenen Sauerstoff-Vol.-%-Gehalte mit denen der Berechnung aus dem Sauerstoffgehalte des Wassers überein, in den Versuchen XI und XIV differiren sie bedeutend, offenbar ist die Circulation der Luft nicht genügend stark und schnell erfolgt, so dass das Kaninchen in höherem Sauerstoffdruck athmete als die Fische. Dieser Sauerstoffgehalt ist für Forellen offenbar durchaus ungenügend und würde bei Verlängerung ihres Aufenthalts in solchem Wasser alsbald ihren Tod herbeiführen.

Die dritte Gruppe umfasst die Versuche, bei denen am Ende Sauerstoffgehalte im Wasser von 0,7 bis 0 gefunden sind[1]). Unter ihnen sind zwei Versuche IV und V nach Versuchsanordnung II, dieselbe reicht nicht hin, einen genügenden Ausgleich im Sauerstoffdruck zwischen Luft und Wasser zu erhalten, dementsprechend geben die Luftproben aus Rohr F bei diesen Versuchen 7,4 bis 8,6 Vol.-% O_2, während die Sauerstoffquantität, welcher im Wasser gefunden ist, nur 1,1 bis 0,4% einer Atmosphäre entspricht. Die Schleien sind bei diesen niedrigen Sauerstoffdrücken am Leben geblieben, weil sie an der Oberfläche höhere Sauerstofftension fanden. In den Versuchen VII und VIII mit 0 Sauerstoff lagen sie auf

---

[1]) Zwei hierher gehörige Versuche mit 0,64 und 1,6 cbcm. O_2 im Liter Wasser am Ende der Versuche werden von Jolyet u. Regnard, a. a. O., S. 631, beschrieben. Hier wurde mehr CO_2 ausgeschieden als O_2 in gleicher Zeit aufgenommen.

der Seite, bereits sehr nahe dem Tode. Jedenfalls besitzen sie wie die Krebse die Fähigkeit, bei sehr niedrigem Sauerstoffgehalte des Wassers lange Zeit noch lebend zu bleiben, wie es von ihnen auch aus den Beobachtungen über ihr Verhalten unter dem Eise im Winter bekannt ist; sie dauern hier lange aus, während die meisten Fische bald zu Grunde gehen, wenn nicht Löcher im Eise offen erhalten werden, an denen sie sauerstoffreicheres Wasser in ihre Kiemen führen können.

Der Versuch IX gibt einen so niedrigen Sauerstoffgehalt in der Luftprobe im Rohr F, dabei auch eine solche Differenz zwischen beiden Wasserportionen im O_2-Gehalte, dass er nur der Vollständigkeit wegen angeführt ist, aber nicht zu Schlüssen an sich verwerthet werden kann.

Die Differenzen der im Wasser gefundenen Stickstoffvolumina sind, wie ersichtlich, bedingt durch die Verschiedenheiten der Versuchsanordnungen mit oder ohne Lufteinpressung in das Wasser während der Versuche. Vermindert sich bei der Lufteinpressung der Sauerstoffgehalt durch die Respiration der Thiere, so steigt dementsprechend die Stickstoffabsorption. Diese Steigerung fällt weg, wenn Stickstoff im Luftraum im Behälter A oder ausserdem in der Flasche Versuchsanordnung II bei ungenügendem Zusammenschütteln über der Flüssigkeit steht und wenig mit dem Wasser bewegt wird.

Die Verschiedenheiten der Barometerstände, welche bei den einzelnen Versuchen beobachtet sind, haben in der Beurtheilung der Volumenverhältnisse des Sauerstoffs und Stickstoffs im Wasser keine Berücksichtigung gefunden, weil nach den in der vorstehenden Mittheilung über die Diffusion des Sauerstoffs und Stickstoffs im Wasser dargelegten Beobachtungen angenommen werden muss, dass die gewöhnlichen Barometerschwankungen auf den Gehalt des Wassers an diesen Gasen keinen erkennbaren Einfluss üben, wenn nicht besonders hohe oder tiefe Barometerstände lange Zeit anhalten.

Strassburg, den 2. Juli 1892.

Beiträge zur Kenntniss der Alkaptonurie.

I. Mittheilung.

Ueber einen neuen Fall von Alkaptonurie.

Von

Heinrich Embden.

(Aus dem Laboratorium von Professor Baumann, Freiburg i. B.)
(Der Redaction zugegangen am 4. Juli 1892.)

Kraske und Baumann[1]), sowie Wolkow und Baumann[2]) haben in jüngster Zeit über einen von ihnen genau beobachteten und untersuchten Fall von Alkaptonurie berichtet; die dabei erhobenen Befunde und die daran geknüpften Ueberlegungen der genannten Autoren haben über diese seltene und bis dahin unerklärte Stoffwechselanomalie ein neues Licht verbreitet.

Die früheren Autoren[3]) hatten als charakteristischen Harnbestandtheil bei der Alkaptonurie[4]) Brenzcatechin, Protocatechusäure, sowie eine Reihe nicht näher bekannter aromatischer Säuren beschrieben, unter denen nur die von Kirk entdeckte Uroleucinsäure durch Huppert mit einiger Wahr-

---

1) München. med. Wochenschrift, 1891, No. 1.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 228.

3) Siehe eine ausführliche kritische Darstellung der Literatur bei Wolkow und Baumann, S. 228 ff.

4) Wir bezeichnen nach dem Vorgange von Wolkow und Baumann mit dem von Boedeker zuerst angewandten Sammelnamen Alkapton jede im Harn gewisser Individuen dauernd vorkommende Substanz, welche demselben zwei Merkmale verleiht, ein sehr bedeutendes Reductionsvermögen und die Eigenschaft, nach Zusatz von Alkalien unter Sauerstoffabsorption sich dunkelbraun bis schwarz zu färben.

scheinlichkeit als Trioxyphenylpropionsäure näher charakterisirt werden konnte[1]).

Ueber die Herkunft der genannten Substanzen im Stoffwechsel der betreffenden Individuen, sowie über die Ursachen und die Bedingungen ihres Auftretens war man bis zu den jüngst publicirten Untersuchungen über Vermuthungen nicht hinausgekommen.

Durch die oben genannten Autoren wurde zum ersten Male die Natur des Alkaptons als eines eigenthümlichen, bis dahin niemals isolirten Harnbestandtheils erkannt, seine chemische Constitution ermittelt, seine Abstammung aus einem normalen Stoffwechselproduct nachgewiesen, die in Betracht kommenden Stoffwechselvorgänge präcisirt und der Versuch gemacht, die Aetiologie der Alkaptonurie auf theoretischem Wege zu ergründen.

Der von Baumann und seinen Mitarbeitern beobachtete Fall ist bisher vereinzelt geblieben. Die Mittheilung eines von mir beobachteten neuen Falles von Alkaptonurie dürfte daher nicht ohne Interesse sein, zumal derselbe zu dem erstgenannten in Beziehungen steht, aus denen sich vielleicht weitere Gesichtspunkte für die Beurtheilung des Wesens der Alkaptonurie gewinnen lassen.

Ehe ich über meine Beobachtungen berichte, scheint es mir geboten, die wesentlichsten Ergebnisse der Untersuchung des Alkaptonharns von Kraske und Baumann und von Wolkow und Baumann zu recapituliren.

Dieser Fall von Alkaptonurie ist bei einem fast 70jährigen Manne, der wegen eines Prostataleidens die chirurgische Klinik zu Freiburg aufgesucht hatte, beobachtet worden. Der Kranke gab an, dass er die eigenthümliche Verfärbung seines Harns beobachtet habe, so lange er sich erinnern könne, dass er aber nie veranlasst gewesen sei, dem Verhalten seines Urins Aufmerksamkeit zu schenken, da er sich vor Beginn seines damaligen Leidens stets gesund gefühlt habe.

Aus dem Harn dieses Patienten isolirten die genannten Autoren eine schön krystallisirende Substanz, deren wässerige

[1]) Anal. des Harns, S. 153.

Lösung alle Eigenschaften des Alkaptonharns zeigte. Sie erkannten in derselben eine aromatische Säure, deren Analyse zur Aufstellung der Formel $C_8H_8O_4$ führte. Aus den Spaltungsproducten ergab sich, dass man es mit derjenigen — bisher unbekannten — Dioxyphenylessigsäure zu thun habe, die sich vom Hydrochinon herleitet. Als erste Homologe der als Gentisinsäure bezeichneten Dioxyphenylcarbonsäure erhielt die von Wolkow und Baumann entdeckte Alkaptonsubstanz den Namen Homogentisinsäure.

Stoffwechselversuche zeigten, dass die Homogentisinsäure wie alle bis jetzt bekannten der aromatischen Reihe angehörenden Harnbestandtheile (bei Fleischnahrung) ein Derivat der Eiweisskörper ist. Höchst überraschend war jedoch der Nachweis, dass unter dessen Spaltungsproducten in den Darmkanal eingebrachtes resp. das dort gebildete Tyrosin als die unmittelbare Quelle der im Harn ausgeschiedenen Homogentisinsäure anzusehen sei.

Wolkow und Baumann haben den chemischen Vorgang bei der Bildung von Homogentisinsäure aus Tyrosin in seine einzelnen Factoren zerlegt. Sie stellen folgende Gleichung dafür auf:

$$\begin{array}{lllll}
\quad OH \qquad + HH & & \quad H & \\
H \quad\;\; H & & OH \quad\; H & \\
 & + 5\,O = & & + NH_3 + CO_2 + 2\,H_2O. \\
H \quad\;\; H & & H \quad\; OH & \\
CH_2 - CH(NH_2) - COOH & & CH_2 - COOH & \\
\qquad\quad + HH & & &
\end{array}$$

Man ersieht daraus, dass der im Körper des Alkaptonmannes verlaufende anomale Vorgang, der zur Bildung der Homogentisinsäure führt, sich darstellt als eine Combination von gleichzeitig an demselben Molekül verlaufenden Reductions- und Oxydationserscheinungen; eine Combination, wie sie bekanntlich das charakteristische Merkmal der durch die Hefen bewirkten Umwandlungen ausmacht.

Das Tyrosin unterliegt also auf seinem Wege von den ersten Abschnitten des Darmkanals, in denen es gebildet wird, bis zu den Harnwegen, die den homogentisinsäurehaltigen

Harn führen, einem Process, den Wolkow und Baumann als einen Gährungsvorgang bezeichnet haben. Keine der zahlreichen Beobachtungen über die Umwandlung aromatischer Verbindungen durch den thierischen Stoffwechsel spricht, wie Wolkow und Baumann besonders betonen, dafür, dass die Umwandlung des Tyrosins zu Homogentisinsäure in den Geweben des Körpers erfolge. Würden durch das thierische Protoplasma im Leben solche Umsetzungen thatsächlich bewirkt, so hätte man sie bei den überaus zahlreichen Stoffwechselversuchen mit aromatischen Verbindungen, welche in den beiden letzten Jahrzehnten angestellt worden sind, unmöglich übersehen können.

Wolkow und Baumann sprechen sich auf Grund eingehender Erörterungen über das Verhalten und die Entstehung der aromatischen Substanzen im Thierkörper dafür aus, dass die Bildung der Homogentisinsäure durch einen Gährungsprocess, welcher der Milchsäure- oder Alkoholgährung analog verlaufe, bewirkt werde, und dass dieser Process nicht wohl im thierischen Protoplasma verlaufe, sondern durch pflanzliche Parasiten, die den Darmkanal bewohnen, zu Stande gebracht werde.

Wolkow und Baumann haben versucht, die von ihnen aufgestellte Theorie der Entstehung der Homogentisinsäure auf experimentellem Wege zu prüfen. Die in dieser Richtung unternommenen Versuche sind aber zu einem entscheidenden Abschlusse — wegen der Abreise des Patienten in seine Heimath — nicht gelangt. Sie heben deswegen in ihrer Arbeit hervor, dass die Frage nach der Berechtigung der von ihnen entwickelten Theorie den Ausgangspunkt weiterer Untersuchungen zu bilden habe.

In der Absicht, mir Material zu solchen Untersuchungen zu verschaffen, suchte ich im Sommer 1891 im Einverständniss mit Herrn Professor Baumann und Herrn Professor Kraske den Alkaptonmann in seiner Heimath auf. Bei dieser Gelegenheit wurde ich auf einen neuen Fall von Alkaptonurie aufmerksam, der nicht nur wegen der Seltenheit der in Rede stehenden Affection beachtenswerth erscheint.

Die mit unserem Patienten zusammenwohnende 60jährige Schwester desselben, Marie D., gab nämlich auf eine bezügliche Frage, zu der mich die Beobachtung von Kirk veranlasste, der Alkaptonurie bei drei Geschwistern sah, an, dass ihr Urin das gleiche abnorme Verhalten zeige, wie der ihres Bruders.

Sie theilte darüber Folgendes mit. Der ohne Beschwerden gelassene Harn zeige entweder sofort, meist aber erst nach einigem Stehen an der Luft eine bräunliche Verfärbung. Er hinterlasse in der Wäsche braune Flecken, die derselben mit einiger Hartnäckigkeit anhafteten.

Diese Eigenschaften ihres Harns hat Patientin während ihres ganzen Lebens, das sie als Magd an verschiedenen Orten des Schwarzwaldes zubrachte, ohne Unterbrechung bemerkt. Ja, aus Erzählungen ihrer Mutter weiss sie bestimmt, dass ihr Harn schon während ihres Säuglingsalters sein auffallendes Verhalten gezeigt hat. Sie berichtet, dass nach Erzählungen ihrer Mutter ihre Windeln sowie die ihres Bruders stets auffallende dunkelbraune Flecken gezeigt hätten, die auch in der Wäsche sich nicht vollständig beseitigen liessen[1]).

Von sonstigen anamnestischen Angaben sei noch hervorgehoben, dass Patientin bis vor 6 Jahren, wo sie eine schwere acute Krankheit (Hirnentzündung) durchmachte, stets gesund gewesen ist und schwere Arbeit verrichtet hat. Vor 4 Jahren erkrankte sie alsdann an einem acut einsetzenden Gelenkrheumatismus, der hauptsächlich die Kniegelenke befiel, die seitdem in ihrer Function schwer gestört sind.

Ich will gleich erwähnen, dass bei einer im October 1891 erfolgten Aufnahme der Patientin in die hiesige medicinische Klinik ausser den Erscheinungen eines chronischen Gelenkrheumatismus beider Kniegelenke eine Stenose der Aortenklappen und eine Insufficienz der Mitralis diagnosticirt wurden

[1]) Vgl. die von Ebstein und Müller (Virch. Arch., Bd. 62, S. 554) mitgetheilten, fast gleichlautenden Angaben der Mutter eines an Brenzcatechinurie leidenden Säuglings.

— Veränderungen, die wir wohl mit Recht auf den durchgemachten acuten Gelenkrheumatismus beziehen dürfen. Irgend welche Veränderungen der Harnorgane oder Störungen in deren Function waren auch objectiv nicht nachweisbar.

Aus diesen Daten ergibt sich mit Bestimmtheit die Unabhängigkeit der anomalen Urinbeschaffenheit von den pathologischen Veränderungen, die am Körper der Patientin gefunden wurden. Es wird deshalb im Folgenden nur von der Beschaffenheit des Urins die Rede sein.

Das Material für die Untersuchung desselben wurde während des Sommers 1891 im Hause der Alkaptonfrau in grossen Blechkannen gesammelt; diese wurden je am Ende einer Woche an die 2 Stunden entfernte nächste Eisenbahnstation geschafft und per Bahn nach Freiburg befördert.

Wenn der Urin hier eintraf, war er stets einer durch die Sommerhitze beförderten starken ammoniakalischen Gährung anheimgefallen und bot dann ein höchst auffallendes Aussehen dar. Seine Farbe war nämlich ein tiefes Schwarzbraun, so dass er gefaultem Pferdeharn sehr ähnlich sah.

Die Untersuchung gelegentlich an Ort und Stelle gewonnener Proben, sowie die täglich wiederholte Beobachtung des frischen Urins, zu der ich im Winter während vieler Wochen Gelegenheit hatte, zeigte, dass der frisch entleerte Harn sich von der Norm äusserlich nur durch einen eigenthümlich goldigen Farbenton unterschied und dass die Braunfärbung genau in der von den früheren Autoren beschriebenen Weise von den obersten, mit der atmosphärischen Luft in Berührung stehenden Schichten ausgehend nach abwärts fortschritt.

Durch Zusatz von Alkalien einerseits, durch Schütteln mit atmosphärischer Luft oder mit reinem Sauerstoff andererseits konnte die Braunfärbung momentan herbeigeführt werden.

Die weitere Untersuchung liess ein sehr bedeutendes Reductionsvermögen des Harns erkennen. In Uebereinstimmung mit den Beobachtungen der früheren Autoren wurde ammoniakalische Silberlösung in der Kälte, alkalische Kupferoxydlösung beim schwachen Erwärmen reichlich reducirt.

Mit dem Nachweis der Verfärbung und der Reductionsfähigkeit war unser Harn als Alkaptonharn gekennzeichnet. Es erübrigte die Feststellung der Natur des Alkaptons.

Zu diesem Zwecke wurde nach dem von Wolkow und Baumann angegebenen Verfahren der mit Schwefelsäure stark angesäuerte Harn mit grossen Quantitäten Aether wiederholt ausgeschüttelt, wobei, wie sich leicht zeigen liess, das Alkapton bis auf geringe, auch durch häufig wiederholtes Schütteln nicht zu extrahirende Mengen in das Aetherextract aufgenommen wurde. Nach dem Verjagen des Aethers blieb im Kolben eine syrupöse, braune, aromatisch riechende Masse zurück. Diese wurde in nicht zu geringer Menge Wasser gelöst und auf dem Wasserbade bis auf ca. 95° erhitzt, heiss mit einer concentrirten Lösung von neutralem essigsauren Blei versetzt und sogleich durch ein Faltenfilter filtrirt. Auf dem Filter blieben geringe Quantitäten eines braunen, flockigen, schmierigen oder krümeligen Niederschlages zurück, das Filtrat stellte eine klare, hochgelbe bis braune Flüssigkeit dar. In derselben schied sich beim Erkalten eine zuerst weisslich, später gelb bis braun gefärbte Krystallmasse ab, die nach 24 Stunden abfiltrirt und an der Luft getrocknet wurde. Durch Behandeln mit Schwefelwasserstoff und erneutes Fällen mit neutralem Bleiacetat liessen sich die Krystalle leicht reinigen; sie zeigten alsdann eine gelbliche Farbe, die sie in Uebereinstimmung mit den von Wolkow und Baumann gemachten Beobachtungen auch bei wiederholtem Umkrystallisiren nicht verloren.

Die Untersuchung der beschriebenen Substanz ergab, dass sie aus reinem homogentisinsauren Blei bestand.

Der Schmelzpunkt lag bei 215°. Die Bestimmungen des Krystallwassergehaltes sowie des Bleies ergaben mit den berechneten Mengen gut übereinstimmende Resultate:

0,6438 gr. lufttrockenes Salz verloren bei 100° 0,058 gr. H_2O.

		Berechnet für $C_{16}H_{14}O_8Pb + 3H_2O$:	Gefunden:
H_2O	=	9,08%	9,06%.

Die bei 100° getrockneten Quantitäten der Substanz wurden für die Bleibestimmung verwandt.

0,3005 gr. wasserfreie Substanz ergaben 0,1507 gr. Bleisulfat, entsprechend 0,1029 gr. Pb.

		Berechnet für $C_{16}H_{14}O_8Pb$:	Gefunden:
Pb	=	34,54 %	34,26 %.

Die Untersuchung der aus dem Bleisalz durch Zersetzen mit Schwefelwasserstoff und Verdunsten der Lösung im Vacuum erhaltenen freien Säure ergab deren Identität mit der von Wolkow und Baumann beschriebenen Homogentisinsäure.

Die Säure krystallisirte in schönen prismatischen weissgelblichen Nadeln, die einmal bei Winterkälte in einer Länge von 1 cm. erhalten wurden. Der Schmelzpunkt lag bei 146—147°.

Die Säure löste sich leicht in Wasser, Alkohol und Aether. Die wässerige Lösung zeigte die bekannten Eigenschaften des Alkaptonharns.

Bei vorsichtigem Zusatz einer verdünnten Lösung von Eisenchlorid trat eine sofort wieder verschwindende, bei erneutem Zusatz des Reagens einige Male wieder auftretende und vergehende schöne Blaufärbung auf.

Diese Daten zeigen zur Genüge die Identität des bei unserer Patientin auftretenden Alkaptons mit dem bei ihrem Bruder entdeckten. Auch die quantitativen Verhältnisse der Ausscheidung, die bei anderer Gelegenheit eingehende Besprechung finden werden, unterscheiden sich nicht wesentlich von denen des Bruders.

Um die Natur der oben erwähnten aus dem Harn nicht zu extrahirenden geringen Mengen reducirender Substanz festzustellen, wurde der nach wiederholtem Schütteln mit Aether zurückbleibende stark saure Rückstand auf dem Wasserbade auf ein kleines Volum eingeengt und von Neuem mit Aether geschüttelt. Es gingen jetzt neue Quantitäten des Alkaptons in den Aether über. Die gewonnene Substanz erwies sich als Homogentisinsäure.

Auf Grund dieser Erfahrung wurde der Versuch gemacht, den stark angesäuerten Harn vor dem Schütteln mit Aether einzudampfen. Das Resultat war ein durchaus befriedigendes. Vergleichende Untersuchungen, die in der Weise angestellt wurden, dass eine Hälfte einer Harnportion nicht eingedampft, die andere eingedampft mit Aether extrahirt wurde, ergaben, dass man ohne Verluste den angesäuerten Harn auf $^1/_6$ seines Volums concentriren darf. Der Vorzug dieses Verfahrens liegt bei der grossen Unbequemlichkeit der Verarbeitung grösserer Harnquantitäten auf der Hand. Wir haben im Laufe des Winters nach dem geschilderten Verfahren den während einer Woche gesammelten Urin, dessen Tagesmengen jeweils mit $^1/_5$ Volum verdünnter Schwefelsäure angesäuert wurden, mit sehr befriedigenden Ausbeuten an Homogentisinsäure verarbeitet.

Bei unseren immer wiederholten Untersuchungen vermochten wir niemals einen anderen, insbesondere einen dem alkalischen Harn durch Schütteln mit Aether zu entziehenden Körper nachzuweisen[1]).

Die Fäces waren bei der Frau, entsprechend den Befunden bei ihrem Bruder, soweit sie frei von beigemischtem Urin erhalten werden konnten, frei von reducirenden Substanzen.

Mit dem im Verlaufe weiterer Untersuchungen geführten Nachweise, dass auch bei unserer Patientin die Homogentisin-

---

[1]) Dagegen zeigte der Harn der Frau, so oft derselbe daraufhin untersucht wurde, ausser seinem Gehalt an Alkapton insofern noch eine weitere Anomalie, als er nur auffällig geringe Mengen von Harnsäure enthielt. Liess man den mit Salzsäure angesäuerten Harn stehen, so war eine Harnsäureausscheidung, wie sie bei normalen Urinen eintritt, überhaupt nie zu beobachten. Indess fehlte, wie sich auf andere Weise zeigen liess, die Harnsäure niemals vollständig, sondern war stets in quantitativ zu bestimmender Menge vorhanden. Die Untersuchungen über einen eventuellen Zusammenhang der Alkaptonurie mit dem Harnsäuremangel sind nicht abgeschlossen und werden in einer demnächst erscheinenden zweiten Abhandlung mitgetheilt werden. Nur so viel sei schon hier erwähnt, dass die Harnsäureabscheidung aus normalem Urin, wie sie nach dem Ansäuern desselben erfolgt, weder durch Zusatz von Alkaptonharn noch von Homogentisinsäure zu dem normalen Harn gestört wird.

säureausscheidung durch Zufuhr von Tyrosin enorm gesteigert wird, war der Beweis der völligen Identität der bei den beiden Geschwistern bestehenden Anomalien geliefert.

Ein besonderes Interesse erforderte jetzt das Verhalten des Urins der Verwandten des Geschwisterpaares.

Beide sind unverheirathet und haben keine directe Nachkommenschaft. Dagegen konnte der Urin von Seitenverwandten untersucht werden.

Die Geschwister entstammen einem ausserehelichen Verhältniss ihrer Eltern. Sie sind die einzigen daraus entsprungenen Kinder.

Sowohl die Mutter wie der Vater sind später Ehen eingegangen, aus beiden Ehen sind Kinder entsprossen.

Mir war zu eingehenderen Untersuchungen nur die einzige eheliche Tochter der Mutter unserer Geschwister, also deren Stiefschwester, erreichbar. Diese, eine verwittwete Frau M. mit mehreren, ca. 10—25jährigen, Kindern, bewohnt mit ihren beiden Stiefgeschwistern ein Haus. Es sei erwähnt, dass zur Zeit, als Frau M. geboren wurde, unsere Alkaptonpatientin noch im Hause ihrer Mutter anwesend war.

Später war sie, wie schon erwähnt, über 40 Jahre hindurch in den benachbarten Thälern bedienstet und ist erst seit einigen Jahren zu ihrer Stiefschwester gezogen. Ihr Bruder war lange Jahre in England, lebt jetzt aber seit über 20 Jahren im Hause seiner Stiefschwester, in welchem er also zur Zeit der Geburt von deren jüngeren Kindern anwesend war.

Sowohl die Stiefschwester wie deren Kinder entleeren einen vollkommen normalen Urin; auch früher haben sie an demselben niemals die charakteristischen Veränderungen des Alkaptonharns bemerkt.

Ich habe in der letzten Zeit Gelegenheit gefunden, auch von einer Tochter des Vaters unserer Patienten zu constatiren, dass dieselbe einen normalen Urin entleert. Dieselbe, die auf einem dem Wohnort ihrer Stiefgeschwister benachbarten Hofe geboren, jetzt in Freiburg als Krankenpflegerin thätig ist, gibt an, dass sie weder an sich, noch bei einem Mitglied ihrer

Familie — sie ist verheirathet und hat Kinder und Enkel — die auffallenden Erscheinungen der Alkaptonurie bemerkt habe.

Ein ebenso negatives Ergebniss hatte die Untersuchung des Urins von Bewohnern benachbarter Höfe; speciell möge erwähnt werden, dass bei einer Bewohnerin des Geburtshauses unserer Geschwister normales Verhalten des Urins constatirt werden konnte.

Das Geschwisterpaar steht also mit den beschriebenen Erscheinungen in seiner Familie und seiner Umgebung vollständig isolirt da.

Die Alkaptonpatientin fand durch das gütige Entgegenkommen von Herrn Geh.-Rath Professor Dr. Bäumler während mehrerer Monate Aufnahme in der hiesigen Universitätsklinik, wodurch es mir ermöglicht worden ist, die Verhältnisse der Alkaptonausscheidung während längerer Zeit zu beobachten. Herrn Geheimrath Bäumler bin ich hierfür und besonders für die mir ertheilte Erlaubniss, einige Stoffwechselversuche an der Patientin anstellen zu dürfen, zu ganz besonderem Danke verpflichtet.

Letztere wurden unternommen, um die Frage nach dem Orte der Entstehung der Homogentisinsäure weiter zu fördern. In einer folgenden Mittheilung werde ich über diese Beobachtungen eingehend berichten.

Ueber einige stickstoffhaltige Bestandtheile der Keimlinge von Vicia sativa.

Von

E. Schulze.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 7. Juli 1892.)

In den etiolirten Keimlingen von Vicia sativa, einem zur Gewinnung von Asparagin bekanntlich sehr geeigneten Material[1]), sind schon vor einer Reihe von Jahren durch von Gorup-Besanez[2]) neben diesem Amid andere Stickstoffverbindungen aufgefunden worden, welche man gleichfalls als Producte der mit dem Keimungsvorgang verbundenen Eiweisszersetzung ansehen kann. Aus dem durch Aufkochen vom Eiweiss befreiten und sodann noch durch Versetzen mit Weingeist und darauf folgende Filtration gereinigten Saft der Keimlinge[3]) gewann der genannte Forscher durch Krystallisation neben Asparagin einen Körper, welcher nach seinem Verhalten für Leucin erklärt werden konnte (eine Analyse desselben ist nicht ausgeführt worden). Da das Roh-Leucin die für Tyrosin charakteristische Reaction mit Mercurinitrat und salpetriger Säure gab, so war anzunehmen, dass auch diese letztere Amidosäure in den Keimlingen sich vorfand,

---

[1]) Aus den Wickenkeimlingen haben Piria, Pasteur, Dessaignes und Chautard, Cossa und Piutti Asparagin dargestellt (vgl. Gmelin's Handbuch der Chemie, Bd. 5, S. 360, Supplementband, S. 899, ferner Landw. Versuchsstationen, Bd. 15, S. 182, und Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 19, S. 1691).

[2]) Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 7, S. 146 u. 569, Bd. 10, S. 780.

[3]) In einigen Versuchen kam Saft zur Verwendung, welcher durch Aufkochen vom Eiweiss befreit und sodann durch Dialyse gereinigt worden war.

wenn auch nur in sehr geringer Quantität. Die nach dem Auskrystallisiren des Asparagins und Leucins übrig gebliebene Mutterlauge lieferte, nachdem sie zuvor mit Salzsäure gekocht worden war, eine geringe Menge von Glutaminsäure. Aus diesen Versuchsergebnissen schloss v. Gorup-Besanez, dass in den Wickenkeimlingen, wahrscheinlich als Producte des Eiweisszerfalls, Asparagin, Glutamin, Leucin und Tyrosin neben einander entstehen.

Dass aber die Reihe der in keimenden Wicken sich bildenden Stickstoffverbindungen damit noch nicht geschlossen ist, können die nachfolgenden Mittheilungen lehren.

Ueber die Gründe, welche mich veranlassten, die Wickenkeimlinge einer erneuten Untersuchung zu unterwerfen, sei hier Folgendes mitgetheilt: Im XI. Bande dieser Zeitschrift[1]) beschrieb ich eine in Lupinen- und Kürbiskeimlingen von mir aufgefundene stickstoffreiche Base, das Arginin = $C_6H_{14}O_4N_2$. Schon damals konnte ich es für sehr wahrscheinlich erklären, dass diese Base während des Keimungsvorgangs auf Kosten von Eiweissstoffen sich bildet. Der sichere Beweis dafür ist später von mir beigebracht worden[2]). Diese Thatsache kann aber um so mehr Interesse beanspruchen, als wir jetzt durch die Arbeiten Drechsel's[3]) wissen, dass auch bei der Spaltung der Eiweissstoffe durch Salzsäure neben den länger schon bekannten Producten Kohlenstoffverbindungen von basischem Charakter sich bilden, von denen zwei, nämlich das Lysatin = $C_6H_{13}N_3O_2$ und das Lysin = $C_6H_{14}N_2O_2$[4]), bis jetzt isolirt werden konnten. Ein weiteres Interesse knüpft sich an die Thatsache, dass gleich dem Lysatin auch das Arginin beim Erhitzen mit Barytwasser Harnstoff liefert[5]).

[1]) S. 43—65. Die Untersuchung des Arginins habe ich in Verbindung mit E. Steiger ausgeführt.

[2]) Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 1098.

[3]) Archiv für Anatomie und Physiologie, 1891, physiologische Abtheilung, S. 248.

[4]) Nach einer neueren Publication Drechsel's ist der letztere Körper wahrscheinlich Diamidocapronsäure.

[5]) Nach einer von A. Likiernik und mir (Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 2701) ausgeführten Untersuchung.

Es erschien mir nun wünschenswerth, noch einige andere Keimpflanzen in dieser Richtung zu untersuchen und zu prüfen, ob dieselben Arginin oder andere Basen, deren Entstehung auf den Zerfall von Eiweissstoffen zurückgeführt werden kann, enthalten. Als ein geeignetes Object für eine solche Untersuchung konnten die bei Lichtabschluss erwachsenen Keimlinge der Wicke betrachtet werden, da von früher her schon bekannt war, dass dieselben beträchtliche Quantitäten von Eiweisszersetzungsproducten enthalten.

Ausser den in diesen Keimlingen enthaltenen organischen Basen habe ich auch die darin sich vorfindenden Amidosäuren einer eingehenden Untersuchung unterworfen. Denn es war nicht unwahrscheinlich, dass neben den durch von Gorup-Besanez aufgefundenen Amidosäuren in den Wickenkeimlingen noch andere Glieder dieser Stoffgruppe enthalten seien und dass der Nachweis derselben mit Hilfe der bei den Lupinen- und Kürbiskeimlingen von mir angewendeten Methoden gelingen werde — Vermuthungen, deren Richtigkeit durch die im Nachfolgenden gemachten Mittheilungen denn auch bewiesen wird.

Zur Klarstellung der bei meiner Arbeit verfolgten Ziele will ich endlich noch darauf hinweisen, dass man nach den von mir und meinen Mitarbeitern ausgeführten Untersuchungen in verschiedenen Keimpflanzen nicht immer die gleichen stickstoffhaltigen Stoffwechselproducte vorfindet und dass man demnach, um einen Ueberblick über die während des Keimungsvorganges sich bildenden Stickstoffverbindungen zu erhalten, mehrere Arten von Keimpflanzen untersuchen muss. Es war daher von Interesse, neben den früher schon von mir untersuchten Lupinen- und Sojakeimlingen auch noch diejenigen der Wicke einer möglichst eingehenden Untersuchung zu unterwerfen.

Die Keimpflanzen, welche zu den im Folgenden beschriebenen qualitativen Untersuchungen dienten, wurden in grossen mit Flusssand gefüllten Zinkblechkästen bei fast vollständigem Lichtabschluss und bei einer Temperatur von 20—22° gezogen; sie wurden theils in frischem Zustand ver-

wendet, theils vor der Untersuchung getrocknet. Letzteres geschah in einem geräumigen Trockenschranke bei einer beträchtlich unter 100° liegenden Temperatur. Die für analytische Bestimmungen verwendeten Keimlinge zog ich auf paraffinirten Gazenetzen, welche über flache, mit destillirtem Wasser gefüllte Glasschalen gespannt waren. Soweit nicht ausdrücklich etwas Anderes angegeben ist, hatten die als Untersuchungsmaterial benutzten Keimlinge drei Wochen lang bei Lichtabschluss vegetirt.

Zum Beschluss der einleitenden Bemerkungen sei noch erwähnt, dass bei Ausführung der im Folgenden aufgeführten analytischen Bestimmungen die Herren Dr. E. Winterstein und S. Frankfurt mir Hilfe geleistet haben, wofür ich ihnen an dieser Stelle meinen Dank ausspreche.

A. Organische Basen.

Es gelang mir nicht, Arginin in den Wickenkeimlingen nachzuweisen. Wie aus der oben citirten Abhandlung zu ersehen ist, kann man diese Base sowohl durch Mercurinitrat als durch Phosphorwolframsäure aus den Extracten ausfällen. Bei Zerlegung des durch das erstere Reagens im Saft der Keimlinge hervorgebrachten Niederschlags erhielt ich nur Krystalle von Asparagin. Auch aus dem Niederschlag, welchen Phosphorwolframsäure in einem wässerigen Extract aus getrockneten, zuvor mit Weingeist extrahirten, Wickenkeimlingen hervorbrachte, konnte ich nach dem früher beschriebenen Verfahren[1]) kein Arginin erhalten.

Dagegen vermochte ich aus den Wickenkeimlingen Cholin, Betain und eine meines Wissens bisher noch nicht in einer Pflanze nachgewiesene Base, nämlich Guanidin, zur Abscheidung zu bringen[2]). Das Nähere ist aus den nachfolgenden Mittheilungen zu ersehen.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 44 und 45.

[2]) Eine kurze Mittheilung über die Auffindung von Guanidin in den Wickenkeimlingen ist in den Berichten der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 25, S. 658 von mir gemacht worden.

a) Guanidin.

Die Abscheidung dieser Base gelang in folgender Weise: Die getrockneten, fein zerriebenen Wickenkeimlinge wurden in der Wärme mit 91—92procentigem Weingeist extrahirt. Den durch Filtration vom Ungelösten getrennten Extract unterwarfen wir der Destillation, behandelten den dabei verbleibenden Rückstand mit Wasser, versetzten die so erhaltene trübe Flüssigkeit mit etwas Gerbsäure, hierauf mit Bleiessig und brachten sie nun auf's Filter. Aus der vom Bleiniederschlag abgelaufenen Flüssigkeit wurde durch Schwefelsäure das Blei ausgefällt; dann wurde eine wässerige Phosphorwolframsäure-Lösung hinzugefügt. Es entstand ein starker Niederschlag, welcher abfiltrirt, mit verdünnter Schwefelsäure gewaschen, zwischen Fliesspapier stark abgepresst und sodann durch Behandlung mit kalter Kalkmilch[1]) zerlegt wurde. Die von den unlöslichen Kalkverbindungen abfiltrirte alkalische Lösung wurde, nachdem Kohlensäure eingeleitet und der durch letztere hervorgebrachte Niederschlag durch Filtration beseitigt worden war, mit Salpetersäure möglichst genau neutralisirt[2]) und sodann im Wasserbade bei gelinder Wärme zum dünnen Syrup eingedunstet. Aus letzterem schieden sich nach einiger Zeit blätterige Krystalle aus. Dieselben wurden von der Mutterlauge getrennt, zur Reinigung zunächst in heissem 95procentigen Weingeist gelöst, aus der filtrirten Lösung durch Eindunsten wieder gewonnen und sodann aus Wasser umkrystallisirt.

Das so gewonnene Product, welches sich als ein salpetersaures Salz erwies, zeigte folgendes Verhalten: Beim Erhitzen im Glasröhrchen zersetzte es sich in ziemlich heftiger Reaction ohne Kohleabscheidung unter Entwickelung von stark ammoniakalischen Dämpfen. Beim Erhitzen mit Kupferoxyd lieferte es Kohlensäure. In kaltem Wasser war es ziemlich schwer löslich; die neutral reagirende Lösung gab folgende

[1]) Es wurde etwas Barytwasser zugefügt, um die vorhandene Schwefelsäure in eine ganz unlösliche Verbindung überzuführen.

[2]) Während des Eindunstens wurde die Flüssigkeit von Zeit zu Zeit auf ihre Reaction geprüft.

Reactionen: Mit Phosphorwolframsäure gab sie einen weissen fein pulverigen Niederschlag. Durch Phosphormolybdänsäure und Jodquecksilber-Jodkalium wurde nichts gefällt[1]). Eine mit Kalilauge versetzte Lösung von Jodquecksilber-Jodkalium (das sog. Nessler'sche Reagens) erzeugte einen starken weissen Niederschlag. Auf Zusatz von Oxalsäure schieden sich nach kurzer Zeit kleine farblose Krystalle, auf Zusatz von Goldchlorid tiefgelbe kleine Nadeln aus. Pikrinsäure brachte eine gelbe krystallinische Fällung hervor.

Genau das gleiche Verhalten zeigt salpetersaures Guanidin.

Unter den oben aufgeführten Guanidin-Reactionen befindet sich eine von mir neu aufgefundene[2]), welche durch ihre Empfindlichkeit ausgezeichnet ist; sie besteht darin, dass die Guanidin-Lösungen mit Nessler'schem Reagens einen weissen oder schwach gelblichen Niederschlag geben; derselbe ist Anfangs voluminös, wird aber nach einiger Zeit dichter. Von dem Niederschlag, welchen das gleiche Reagens in Ammoniak-Lösungen hervorbringt, unterscheidet er sich durch seine Farbe. Von dieser Reaction habe ich auch später noch Gebrauch gemacht.

Durch F. Emich[3]) ist nachgewiesen worden, dass Guanidin durch Natriumhypobromit zersetzt wird, und zwar gehen bei dieser Reaction $^2/_3$ vom Stickstoff des Guanidins in freien Zustand über. Auch das bei Verarbeitung der Wickenkeimlinge von mir erhaltene salpetersaure Salz wurde durch das genannte Reagens unter Gasentwickelung zersetzt. Ich bestimmte die Gasmenge in der von P. Wagner[4]) beschriebenen Modification des Azotometers und erhielt dabei folgendes Resultat:

0,100 gr. Substanz gaben 18,8 cbcm. Gas bei 731 mm. Quecksilberdruck und 15° C.

---

[1]) Beim Eindunsten der mit Phosphormolybdänsäure versetzten Lösung schied sich aber eine schwer lösliche Verbindung aus.

[2]) Vgl. Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 25, S. 661.

[3]) Monatshefte für Chemie, Bd. 12, S. 23.

[4]) Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 13, S. 383. Auch die für den Versuch verwendete bromirte Natronlauge war nach Wagner's Angabe hergestellt.

Zum Vergleich untersuchte ich ein aus käuflichem Guanidincarbonat von mir dargestelltes Präparat von salpetersaurem Guanidin und erhielt dabei folgende Zahlen:

0,100 gr. Substanz gaben 18,8 cbcm. Gas bei 731 mm. Quecksilberdruck und 15° C.

0,100 gr. Substanz gaben 19,0 cbcm. Gas bei 731 mm. Quecksilberdruck und 15° C.

Die Uebereinstimmung der für die beiden Präparate erhaltenen Ergebnisse war also eine fast vollständige[1]).

Einen Theil des aus den Wickenkeimlingen erhaltenen Nitrats verwandelte ich nun in das Carbonat, indem ich die wässerige Lösung des ersteren mit Phosphorwolframsäure versetzte, den dabei erhaltenen Niederschlag (nach dem Abfiltriren und Auswaschen) durch Kalkmilch zerlegte und die von den unlöslichen Kalkverbindungen abfiltrirte Flüssigkeit im Wasserbade eindunstete, nachdem sie zuvor mit Kohlensäure gesättigt und hierauf noch einmal filtrirt war. Das so erhaltene Carbonat krystallisirte leicht und war unlöslich in Weingeist. Mit demselben wurden noch zwei Guanidin-Reactionen angestellt. Die eine Reaction beruht auf der von E. Baumann[2]) entdeckten Synthese von Guanylharnstoff (Dicyandiamidin) aus Guanidincarbonat und Harnstoff und besteht darin, dass man ein Gemenge dieser Substanzen eine Zeit lang vorsichtig erhitzt, das Product sodann in Wasser löst und dieser Lösung zuerst Natronlauge, hierauf eine geringe Menge von Kupfersulfat zusetzt; es entsteht dann ein rosenrother Niederschlag. Die zweite Reaction ist von E. Bamberger[3]) angegeben und beruht auf dem Verhalten des cyanursauren Guanidins. Man setzt einer kochenden

---

[1]) Bringt man an obigen Zahlen auf Grund der Dietrich'schen Tabelle eine Correction für die von der bromirten Natronlauge absorbirte Stickstoffmenge an, so ergibt sich, dass 0,100 gr. salpetersaures Guanidin im Mittel 19,41 cbcm. Stickstoff bei 731 mm. Quecksilberdruck und 15° C. = 0,0219 gr. N geliefert hat. Es sind also nahezu $^2/_3$ des im Guanidin enthaltenen Stickstoffs in Freiheit gesetzt worden.

[2]) Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 7, S. 446. M. vgl. auch die in der nachfolgenden Anmerkung citirte Abhandlung Bamberger's.

[3]) Ebendaselbst, Bd. 20, S. 68.

Cyanursäure-Lösung Guanidincarbonat bis zum Aufhören der Kohlensäure-Entwickelung zu. Bald nach dem Erkalten scheiden sich dann lange feine Nadeln des cyansauren Salzes aus. Das von mir dargestellte Carbonat gab beide Reactionen.

Schliesslich wurde noch das Chloraurat der Base, welches sich nach Versetzen einer wässerigen Lösung des Nitrats mit Goldchlorid in tiefgelben Nadeln ausschied, der Analyse unterworfen. Dabei ergaben sich folgende Resultate:

a) 0,2405 gr. Substanz (bei 95° getrocknet) gaben 0,1180 gr. Gold und 0,344 gr. Chlorsilber[1]).
b) 0,3220 gr. Substanz gaben 0,159 gr. Gold.
c) 0,3350 gr. Substanz gaben nach der Methode von Kjeldahl 0,03367 gr. Stickstoff in Ammoniakform.

Diese Zahlen entsprechen der Formel des salzsauren Guanidin-Goldchlorids = $CH_5N_3HCl \cdot AuCl_3$, wie folgende Zusammenstellung zeigt:

		Berechnet:	Gefunden: a)	b)	c)	
C	=	3,01	—	—	—	%.
H	=	1,50	—	—	—	»
N	=	10,53	—	—	10,05	»
Au	=	49,37	49.06	49,38	—	»
Cl	=	35,59	35,38	—	—	»

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse machen es zweifellos, dass die aus den Wickenkeimlingen abgeschiedene Base Guanidin = CH_5N_3 war.

Aus drei nach einander zur Untersuchung gelangten Culturen von Wickenkeimlingen vermochte ich in der beschriebenen Weise Guanidin zu isoliren. Die Ausbeute war nur gering; um ein Gramm salpetersaures Guanidin zu erhalten, musste ich ungefähr 3 Kilogramm lufttrockner Keimlinge verarbeiten. Es unterliegt aber keinem Zweifel, dass das Guanidinnitrat nur ganz unvollständig auskrystallisirte. Der Beweis

[1]) Bei Ausführung dieser Bestimmungen wurde aus der Auflösung des Golddoppelsalzes in heissem Wasser das Gold durch Schwefelwasserstoff ausgefällt. Das Filtrat vom Schwefelgold befreite ich durch Eintröpfeln von Kupfersulfat-Lösung vom Schwefelwasserstoff, filtrirte und fällte sodann die Salzsäure mittelst Silbernitrats.

dafür liegt u. A. darin, dass die von den ersten Krystallisationen abfiltrirten Mutterlaugen bei weiterem Verdunsten keine Krystalle des genannten Salzes mehr lieferten; dagegen liess sich aus ihnen noch Guanidin gewinnen, indem man sie mit Oxalsäure versetzte; nach Verlauf von einigen Tagen schied sich dann oxalsaures Guanidin aus.

Aus ungekeimten Wickensamen konnte ich kein Guanidin abscheiden.

Wenn es auch von vornherein nicht für wahrscheinlich erklärt werden konnte, dass das von mir erhaltene Guanidin erst während der Verarbeitung der Keimlinge aus irgend einem Bestandtheil der letzteren sich gebildet hatte, so erschien es mir doch wünschenswerth, diese Frage noch experimentell zu prüfen. Für einen der zu diesem Zweck angestellten Versuche verwendete ich frische Wickenkeimlinge. Dieselben wurden grob zerkleinert und dann sofort in Wasser geworfen, welches fast bis zum Sieden erhitzt war. Den so erhaltenen Extract reinigte ich mittelst Gerbsäure und Bleiessigs und versetzte ihn sodann mit Phosphorwolframsäure. Der durch letzteres Reagens hervorgebrachte Niederschlag wurde in der früher beschriebenen Weise behandelt, die bei seiner Zerlegung (mittelst Kalkmilch) erhaltene alkalische Flüssigkeit mit Salpetersäure neutralisirt und hierauf im Wasserbade eingedunstet.

Dass aus dieser Flüssigkeit das Guanidinnitrat schwieriger zu isoliren sein werde, als aus den früher untersuchten Lösungen, war von vornherein zu erwarten; denn jene Flüssigkeit schloss sowohl die in Wasser, als die in Weingeist löslichen basischen Bestandtheile der Wickenkeimlinge ein, insoweit dieselben durch Phosphorwolframsäure fällbar waren. Der Erfolg entsprach dieser Erwartung; aus jener Flüssigkeit krystallisirte zunächst nur salpetersaures Kali aus[1]). Ich behandelte daher die bis zur Syrupsconsistenz eingedunstete Flüssigkeit in der Wärme mit 95procentigem Weingeist, filtrirte den Extract nach dem Erkalten vom Ungelösten ab, dunstete ihn sodann ein, löste

[1]) Da in einer angesäuerten Kali-Lösung durch Phosphorwolframsäure ein Niederschlag hervorgebracht wird, so ist es leicht erklärlich, dass in jener Flüssigkeit Kalisalpeter sich vorfand.

den Verdampfungsrückstand in wenig Wasser und setzte Oxalsäure-Lösung zu. Nach ungefähr 24 Stunden begann die Abscheidung von Krystallen, welche nach mehrtägigem Stehen von der Flüssigkeit getrennt und sodann mit Kalkmilch behandelt wurden. Es resultirte eine alkalische Lösung, welche durch Einleiten von Kohlensäure vom überschüssigen Kalk befreit, sodann mit Salpetersäure neutralisirt und eingedunstet wurde. Es krystallisirte nun salpetersaures Guanidin aus. Dasselbe wurde mit Hilfe der oben beschriebenen Reactionen identificirt.

Auch aus den frischen Keimlingen liess sich also Guanidin gewinnen — ein Beweis dafür, dass dasselbe nicht erst während des Trocknens der Keimlinge entstanden war.

In einem zweiten Versuch wurden frische Keimlinge, nachdem sie $4^1/_2$ Wochen lang bei Lichtabschluss vegetirt hatten, unmittelbar nach der Ernte in absoluten Alkohol geworfen und in letzterem ungefähr einen Monat lang belassen. Der durch das Vegetationswasser der Keimlinge verdünnte Alkohol zog aus den letzteren eine ziemlich beträchtliche Substanzmenge aus. Im Hinblick auf die Löslichkeit sehr vieler Guanidinsalze in Weingeist war zu erwarten, dass auch diese Base aus den Keimlingen in den alkoholischen Extract übergegangen war. Ich dunstete nun den letzteren unter Zusatz von Magnesia (zum Verjagen etwa vorhandenen Ammoniaks) bei 50° zum Syrup ein, verdünnte den letzteren mit Wasser und filtrirte die Lösung nach Zusatz von etwas Thierkohle. Das Filtrat gab nicht nur mit Nessler'schem Reagens einen starken gelblichen Niederschlag[1]), sondern auch beim Schütteln mit Natriumhypobromit eine lebhafte Gasentwickelung — Reactionen, welche für das Vorhandensein von Guanidin sprechen. Ein Theil des Filtrats wurde nun, nachdem es mittelst Bleiessigs gereinigt worden war, mit Phosphorwolframsäure gefällt, der so erhaltene Niederschlag mit Kalkmilch zerlegt, die dabei resultirende Flüssigkeit mit Salpetersäure neutralisirt und im Wasserbade auf ein geringes Volumen eingedunstet. Auch diese Flüssigkeit

[1]) Jodquecksilber-Jodkalium ohne Zusatz von Kalilauge gab keine Fällung.

gab mit Nessler'schem Reagens einen nur schwach gelb gefärbten Niederschlag und eine lebhafte Gasentwickelung mit Natriumhypobromit. Als ich ferner den beim Verdunsten dieser Flüssigkeit verbleibenden Syrup, aus welchem salpetersaures Kalium auskrystallisirte, mit heissem Weingeist behandelte, den vom Ungelösten durch Filtration getrennten alkoholischen Extract eindunstete, den Verdampfungsrückstand in wenig Wasser löste und der Lösung Oxalsäure zufügte, schieden sich nach etwa 24 Stunden kleine farblose Krystalle aus.

Diese Versuchsergebnisse können wohl als ein genügender Beweis dafür betrachtet werden, dass das aus den Wickenkeimlingen von mir abgeschiedene Guanidin schon in den frischen Keimlingen sich vorfand und demnach nicht ein postmortales Product war. Das Vorkommen dieser bekanntlich dem Harnstoff sehr nahe stehenden Stickstoffverbindung im Pflanzenorganismus ist aber eine Thatsache, welche in physiologischer Hinsicht Interesse beanspruchen kann.

Ueber die Entstehungsweise des Guanidins in den Keimlingen lässt sich zur Zeit etwas Bestimmtes nicht aussagen; doch sei hier daran erinnert, dass F. Lossen[1]) bei der Oxydation von Eiweissstoffen mittelst Kaliumpermanganats eine geringe Menge von Guanidin erhalten hat. Es dürfte demnach wohl im Bereich der Möglichkeit liegen, dass auch in den Keimpflanzen diese Base durch Oxydation von Eiweissstoffen entstanden ist.

Unter Benutzung des Umstandes, dass die Keimlinge an Weingeist das Guanidin abgaben, habe ich noch zu ermitteln gesucht, wie viel Guanidin in maximo in den Keimlingen enthalten sein konnte. Frische $4^1/_2$ wöchentliche Keimlinge wurden in absoluten Alkohl geworfen, nach 4 wöchentlichem Verweilen unter letzterem herausgenommen, in gelinder Wärme getrocknet, fein zerrieben, wieder in die alkoholische Flüssigkeit gebracht und unter häufigem Umschütteln noch einige Tage darin gelassen. Einen abgemessenen Antheil des so gewonnenen alkoholischen Extracts verdunstete ich sodann unter Zusatz

[1]) Ann. d. Chem., Bd. 201, S. 366.

von Magnesia, löste den Verdampfungsrückstand in Wasser, füllte die Lösung auf ein bestimmtes Volumen auf und filtrirte sie sodann. Einen abgemessenen Antheil des Filtrats brachte ich im Azotometer mit bromirter Natronlauge zusammen und bestimmte die dabei sich entwickelnde Gasmenge. Unter der Voraussetzung, dass dieses Gas ausschliesslich durch Zersetzung von Guanidin entstanden war, berechnet sich aus den bezüglichen Zahlen, welche ich hier nicht einzeln mittheilen will, für die trocknen Keimlinge ein Guanidin-Gehalt von ungefähr 0,23 %. Diese Zahl kann zu hoch sein; denn es ist möglich, dass die im Azotometer erhaltene Gasmenge nicht ausschliesslich vom Guanidin geliefert worden war. Dass die aus den Keimlingen abscheidbare Guanidin-Quantität eine viel geringere war, kann übrigens nicht auffallen. Denn es machen sich ja ohne Zweifel bei der Abscheidung der genannten Base nach dem oben beschriebenen Verfahren mannigfache Verlustquellen geltend; auch ist darauf aufmerksam zu machen, dass die vorstehende Gehaltsangabe sich auf 4½ wöchentliche Keimpflanzen bezieht, während für die oben beschriebene Darstellung des Guanidins 3wöchentliche Keimlinge verwendet wurden.

b) Cholin und Betain.

Diese beiden Basen, welche auch in den ungekeimten Wickensamen von mir nachgewiesen wurden[1]), liessen sich aus der nach dem Auskrystallisiren des salpetersauren Guanidins (vgl. oben) übrig gebliebenen Mutterlauge zur Abscheidung bringen. Ich behandelte diese Mutterlauge bei Wasserbadhitze mit 95procentigem Weingeist, filtrirte den weingeistigen Extract vom Ungelösten ab und versetzte ihn mit einer alkoholischen Quecksilberchlorid-Solution[2]). Es schieden sich Quecksilberdoppelsalze aus, welche nach einigen Wochen von der überstehenden Flüssigkeit getrennt und aus heissem Wasser umkrystallisirt wurden. Ich zerlegte sie dabei durch fractionirte

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 140.

[2]) M. vgl. in Betreff dieses zur Abscheidung der oben genannten Basen angewandten Verfahrens die in der vorstehenden Anmerkung citirte Abhandlung, S. 142.

Krystallisation in mehrere Theile. Die am schwersten in Wasser lösliche Fraction zeigte das Aussehen der bezüglichen Cholinverbindung und lieferte bei der Zerlegung mittelst Schwefelwasserstoffs ein in langen zerfliesslichen Nadeln krystallisirendes, in kaltem absolutem Alkohol lösliches Chlorhydrat, welches die Reactionen des salzsauren Cholins gab[1]). Dass in der That das letztere Salz vorlag, wird noch durch die Eigenschaften des in bekannter Weise aus dem Chlorhydrat dargestellten Chloroplatinats bewiesen. Dasselbe glich im Aussehen vollkommen dem salzsauren Cholin-Platinchlorid; es krystallisirte bei langsamem Verdunsten seiner wässerigen Lösung in orangerothen, meist sechsseitigen Tafeln; bei rascher Ausscheidung aus einer in der Wärme stark concentrirten Lösung entstanden lange prismatische Krystalle. Die Bestimmung des Platingehalts in dem bei 100° getrockneten Salz gab folgende Resultate:

1. 0,3015 gr. Substanz gaben 0,0950 gr. Platin.
2. 0,3750 » » » 0,1190 » »

	Berechnet für $(C_5H_{14}NOCl)_2PtCl_4$:	Gefunden: 1.	2.
Pt =	31,61	31,51	31,73 %.

Die im Vorstehenden mitgetheilten Versuchsergebnisse können wohl als ein genügender Beweis dafür angesehen werden, dass Cholin, eine sowohl in den ungekeimten Wickensamen als auch in den bei Lichtabschluss erwachsenen Keimlingen von Lupinus luteus, Soja hispida und Cucurbita pepo von mir[2]) nachgewiesene Base, auch in den etiolirten Wickenkeimlingen sich findet.

Aus dem in Wasser leichter löslichen Theil der in oben beschriebener Weise erhaltenen Quecksilberdoppelsalze liessen sich durch fractionirte Krystallisation breite Prismen isoliren, welche bei der Zerlegung mittelst Schwefelwasserstoffs salzsaures Betain lieferten. Das letztere Salz, durch Behandlung mit kaltem absolutem Alkohol von etwa vorhandenem salzsaurem Cholin befreit, schied sich aus der wässerigen

[1]) Vgl. in Betreff dieser Reactionen diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 144.
[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 365, Bd. 12, S. 411.

Lösung in grossen luftbeständigen Krystallen aus; es gab die früher von mir für salzsaures Betain angegebenen Reactionen[1]). Das Golddoppelsalz krystallirte in gelben Blättern; bei Analyse desselben wurden folgende Zahlen erhalten[2]):

1. 0,3590 gr. Substanz gaben 0,1550 gr. Au und 0,4510 gr. AgCl.
2. 0,2800 gr. Substanz gaben 0,1205 gr. Au.

		Berechnet für $C_5H_{12}NO_2AuCl_4$:	Gefunden: 1.	2.
Au	=	43,10	43,19	43,04 %.
Cl	=	31,08	31,07	— »

Ausser den beim Umkrystallisiren der Quecksilberdoppelsalze erhaltenen Krystallfractionen, welche bei der Zerlegung einerseits salzsaures Cholin, andererseits salzsaures Betain lieferten, wurden andere Fractionen gewonnen, bei deren Zerlegung ein Gemenge der genannten beiden salzsauren Salze entstand; dieses Gemenge liess sich durch Behandlung mit absolutem Alkohol in der früher von mir beschriebenen Weise trennen. In sehr geringer Quantität wurden ferner zwei Krystallfractionen von eigenthümlichem Aussehen erhalten, über deren Natur ich zur Zeit keinen Aufschluss geben kann, da die Menge derselben für eine genauere Untersuchung nicht ausreichte. Schliesslich blieb eine dickflüssige Mutterlauge übrig, aus welcher auch bei längerem Stehen nichts mehr auskrystallisirte. Ich verdünnte dieselbe mit Wasser, leitete Schwefelwasserstoff ein und verdunstete die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte Flüssigkeit zum Syrup. Aus letzterem krystallisirte ein Salz aus, welches sich bei der Untersuchung noch als salzsaures Betain erwies.

Wie schon oben von mir erwähnt wurde, habe ich Cholin und Betain auch in den ungekeimten Samen nachweisen können. Doch vermochte ich aus den letzteren weit weniger Cholin zu gewinnen, als aus den Keimlingen. Bei Verarbeitung von 3—3½ Kilogramm der Keimlinge erhielt ich ungefähr 5 gr. salzsaures Cholinplatinchlorid, also pro Kilo-

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 145.

[2]) Die Bestimmungen wurden in der gleichen Weise ausgeführt, wie beim salzsauren Guanidin-Goldchlorid (vgl. S. 200).

gramm ca. 1,5 gr. (= 0,6 gr. Cholin). Bei Verarbeitung von 20 Kilogramm ungekeimter Wickensamen habe ich früher 8—9 gr. des Chloroplatinats erhalten, also pro Kilogramm nur 0,4—0,45 gr. Aus denjenigen Wickensamen, welche bei Darstellung der Keimlinge zur Verwendung kamen, vermochte ich aber nach demselben Verfahren nur eine ungleich geringere Cholin-Quantität zur Abscheidung zu bringen (ein Beweis dafür, dass der Cholin-Gehalt verschiedener Wickensamen-Muster beträchtlichen Schwankungen unterliegen kann). Es ist daraus zu schliessen, dass während des Keimungsvorgangs das Cholin eine bedeutende Vermehrung erfahren hat. Es darf wohl für fast zweifellos erklärt werden, dass diese Zunahme des Cholins mit der während des Keimungsvorgangs stattfindenden Abnahme des Lecithins zusammenhängt. Dass etiolirte Lupinenkeimlinge viel weniger Lecithin enthalten, als die ungekeimten Lupinensamen, ist früher schon von mir nachgewiesen worden; das Gleiche gilt auch für die bei Lichtabschluss erwachsenen Wickenkeimlinge im Vergleich mit den ungekeimten Wickensamen. Den Beweis dafür lieferten Lecithin-Bestimmungen, welche in der von E. Steiger und mir[1]) beschriebenen Weise ausgeführt wurden. Dieselben lieferten folgende, auf die Trockensubstanz des Untersuchungsmaterials sich beziehende Zahlen[2]):

		Ungekeimte Wickensamen:	4wöchentliche Wickenkeimlinge:
Lecithin	=	0,74	0,19 %.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 378.

[2]) Analytische Belege:

A. Ungekeimte Wickensamen.

Angewendet je 10 gr. lufttrockne Substanz = 8,725 gr. wasserfrei.

Erhalten:	a) 0,0091	gr.	Magnesiumpyrophosphat.
	b) 0,0080	»	»
	c) 0,0090	»	»
	d) 0,0092	»	»

B. 4wöchentliche Wickenkeimlinge.

Angewendet je 10 gr. lufttrockne Substanz = 9,424 gr. wasserfrei.

Erhalten:	a) 0,0025	gr.	Magnesiumpyrophosphat.
	b) 0,0024	»	»

Nach diesen Zahlen haben während 4wöchentlicher Vegetation der Keimlinge bei Lichtabschluss mindestens $^3/_4$ des in den Samen enthaltenen Lecithins sich zersetzt[1]). Da 100 Theile Lecithin beim Zerfall 15 Theile Cholin geben können, so reicht die zerfallene Lecithinmenge aus, um das in den Keimlingen vorgefundene Cholin zu liefern[2]).

Betain schien sich in den Keimlingen ungefähr in der gleichen Menge vorzufinden, wie in den ungekeimten Samen. Das Betain gehört also nicht zu den Stoffen, welche in den bei Lichtabschluss vegetirenden Wickenkeimlingen aufgezehrt werden. Dass während des Keimungsvorgangs eine Vermehrung des Betains stattfindet, ist nicht anzunehmen.

B. Amidosäuren.

Zur Gewinnung der Amidosäuren wurden die getrockneten, fein zerriebenen Keimlinge mit 91—92procentigem Weingeist ausgekocht, der filtrirte Extract der Destillation unterworfen, der dabei verbleibende Rückstand mit Wasser behandelt, die trübe Flüssigkeit mit etwas Gerbsäure, dann mit Bleiessig versetzt und nun auf das Filter gebracht. Das Filtrat dunstete ich, nachdem es zuvor mittelst Schwefelwasserstoffs vom Blei befreit worden war, im Wasserbade zum Syrup ein. Die aus letzterem nach und nach sich ausscheidenden, noch sehr unreinen Amidosäuren bildeten eine gefärbte, dem unbewaffneten Auge amorph erscheinende Masse. Sie wurden mittelst eines Zeugfilters von der Mutterlauge getrennt, zwischen Fliesspapier stark abgepresst und sodann bei Wasserbadhitze mit absolutem Alkohol unter Zusatz von etwas Ammoniakflüssigkeit behandelt. Es entstand eine Lösung[3]), welche beim Verdunsten über concentrirter Schwefelsäure eine weisse, im Aussehen dem unreinen Leucin gleichende Ausscheidung lieferte.

---

[1]) Da während des Keimungsvorgangs die Trockensubstanz der Samen eine Abnahme erfährt, so übersteigt der Lecithinverlust die Differenz der obigen Gehaltszahlen.

[2]) Wobei zu beachten ist, dass schon die ungekeimten Wickensamen etwas Cholin enthalten.

[3]) Zurück blieb eine geringe Menge von Asparagin.

Dieses Product, welches zweifellos aus einem Gemenge mehrerer Amidosäuren bestand, behandelte ich, nachdem es abfiltrirt und mit Weingeist gewaschen worden war, mit so viel alkoholischer Ammoniakflüssigkeit, dass nur ungefähr die Hälfte davon sich auflöste; der Rest wurde dann durch eine zweite Portion des gleichen Lösungsmittels in Lösung gebracht. Beide Lösungen lieferten beim Verdunsten über Schwefelsäure weisse krystallinische Ausscheidungen. Ich will die letzteren als Substanz A und Substanz B bezeichnen.

Ehe ich die bei näherer Untersuchung dieser Producte erhaltenen Resultate mittheile, will ich an das eigenthümliche Verhalten erinnern, welches die schwer löslichen Kupferverbindungen der Amidosäuren zeigen. Sättigt man eine reine Leucin-Lösung in der Wärme mit Kupferoxydhydrat oder kocht man sie mit Kupferacetat, so scheidet sich rasch Leucinkupfer aus. Eine unreine Leucin-Lösung, insbesondere aber eine neben Leucin noch andere Amidosäuren enthaltende Lösung, liefert bei gleicher Behandlung entweder gar keine oder doch nur eine der Quantität nach geringe Ausscheidung. Es scheint, dass die Kupferverbindungen der Amidosäuren sich gegenseitig in Lösung zu halten vermögen[1]. Indessen gilt dies nicht für alle diese Verbindungen in gleichem Grade. So fand ich z. B., dass aus unreinen Lösungen die Kupferverbindung des Phenylalanins (der Phenyl-α-Amidopropionsäure) sich weit leichter ausscheidet, als diejenigen des Leucins und der Amidovaleriansäure — ein Verhalten, welches ich in mehreren Fällen zur Isolirung der ersteren Amidosäure benutzt habe[2].

Auch aus dem bei Verarbeitung der Wickenkeimlinge erhaltenen Gemenge von Amidosäuren vermochte ich nach dem gleichen Verfahren Phenylalanin zu isoliren, und zwar aus der oben mit A bezeichneten Substanz. Ich sättigte die wässerige Lösung der letzteren in der Wärme mit Kupferoxydhydrat. Es schieden sich Kupferverbindungen aus, welche abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen und sodann durch Schwefel-

---

[1]) Vgl. die Mittheilungen Hofmeister's, Ann. d. Chem., Bd. 189, S. 6.
[2]) Vgl. diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 74.

wasserstoff zerlegt wurden. Die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Lösung wurde durch Verdampfen concentrirt und sodann mit Kupferacetat gekocht, die dabei sich ausscheidende Kupferverbindung wieder zerlegt, die nun resultirende Amidosäuren-Lösung noch einmal in der gleichen Weise behandelt (wobei ich stets nur so viel Kupferacetat zufügte, dass die in der Lösung vorhandene Amidosäuren-Quantität nicht vollständig ausgefällt wurde). So erhielt ich schliesslich eine Amidosäure, welche die Eigenschaften des Phenylalanins zeigte. Sie krystallisirte aus einer noch heissen wässerigen Lösung in kleinen glänzenden Blättchen. Beim Erhitzen im Glasröhrchen zerfiel sie, während ein geringer Theil unzerlegt sublimirte, einen gelben geschmolzenen Rückstand[1]) und einen leicht flüchtigen Körper, welcher im oberen Theil des Röhrchens sich in farblosen, nach dem Erkalten krystallinisch erstarrenden Tropfen sich absetzte[2]); aus einer Auflösung der letzteren in wenig heisser verdünnter Salzsäure schieden sich auf Zusatz von Platinchlorid orangegelbe Krystallblättchen aus. Genau das gleiche Verhalten zeigt das aus Lupinenkeimlingen und aus Eiweissstoffen von mir dargestellte Phenylalanin. Beim Erhitzen der aus Wickenkeimlingen dargestellten Amidosäure mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure trat der Geruch des Benzaldehyds auf; beim Erkalten schied sich aus der Flüssigkeit eine Substanz aus, welche das Aussehen und die Eigenschaften der Benzoesäure besass. Durch Umkrystallisiren aus Wasser gereinigt, schmolz sie im Capillarröhrchen bei 120—120,5°; in höherer Temperatur sublimirte sie. Ihre wässerige Lösung gab mit Eisenchlorid einen gelblichen Niederschlag. Endlich untersuchte ich noch die Kupferverbindung der im Vorigen besprochenen Amidosäure. Dieselbe glich im Aussehen dem früher von mir dargestellten Phenylalanin-Kupfer; sie schied sich sofort in blassblauen Krystallblättchen aus, als eine heisse

---

[1]) Bei starker Steigerung der Temperatur sublimirt dieser, aus Phenyllactimid bestehende Rückstand.

[2]) Der Inhalt des Röhrchens zeigt nach dem Erkalten einen Geruch, welcher an denjenigen der Blüthen der Kapuzinerkresse erinnert.

wässerige Lösung der Amidosäure mit Kupferacetat versetzt wurde. Eine darin ausgeführte Kupferbestimmung gab folgendes Resultat:

0,1565 gr. Substanz gaben 0,0311 gr. CuO.

		Berechnet für $(C_9H_{10}NO_2)_2Cu$:	Gefunden:
Cu	=	16,2	15,9 %.

Diese Versuchsergebnisse berechtigen zu der Schlussfolgerung, dass in den Wickenkeimlingen Phenylalanin (Phenyl-α-Amidopropionsäure), identisch mit der von J. Barbieri und mir aus Eiweissstoffen und Lupinenkeimlingen dargestellten Amidosäure gleichen Namens, enthalten ist.

Wie aus dem oben Gesagten zu ersehen ist, liess sich diese Amidosäure aus der Fällung gewinnen, welche in der wässerigen Lösung der Substanz A beim Kochen mit Kupferoxydhydrat entstand. Die davon abfiltrirte tiefblaue Flüssigkeit wurde zur möglichst vollständigen Beseitigung des Phenylalanin-Kupfers eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit Wasser behandelt, die tiefblaue Flüssigkeit durch Filtration vom Ungelösten getrennt und sodann durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit. Das Filtrat vom Schwefelkupfer verdunstete ich zur Trockne und krystallisirte den Verdampfungsrückstand mehrmals aus alkoholischer Ammoniakflüssigkeit um. So erhielt ich ein aus kleinen, glänzenden Krystallblättchen bestehendes Präparat. Eine Probe desselben verflüchtigte sich beim Erhitzen im Glasröhrchen unter Hinterlassung eines sehr geringen Rückstands zu einem weissen Sublimat; Phenylalanin konnte also darin nur noch in unwesentlicher Menge vorhanden sein. Eine nach der Kjeldahl'schen Methode ausgeführte Stickstoffbestimmung gab folgendes Resultat:

0,4120 gr. Substanz gaben 0,046422 gr. (Stickstoff in Ammoniakform) = 11,26 % N.

Der Stickstoffgehalt des untersuchten Präparats liegt zwischen demjenigen des Leucins (= 10,69 %) und der Amidovaleriansäure (= 11,96 %). Mit der Annahme, dass ein Gemenge dieser beiden Amidosäuren vorlag, steht

auch die Thatsache in Uebereinstimmung, dass die wässerige Lösung des bezüglichen Präparats beim Kochen mit Kupferacetat keine Ausscheidung gab. Im Gegensatz zum Leucin wird nämlich die von J. Barbieri und mir[1]) aus Lupinenkeimlingen abgeschiedene Amidovaleriansäure auch aus einer reinen Lösung durch Kochen mit Kupferacetat nicht gefällt, und auch eine Lösung, welche neben Amidovaleriansäure Leucin enthält, zeigt das gleiche Verhalten.

Dass Leucin und Amidovaleriansäure neben einander in den Wickenkeimlingen sich vorfanden, lässt sich noch sicherer aus den Ergebnissen schliessen, welche bei Untersuchung des oben mit B bezeichneten Theils des Amidosäuren-Gemenges erhalten wurden. Dieser Theil lieferte bei mehrmaligem Umkrystallisiren aus alkoholischer Ammoniakflüssigkeit ein aus glänzenden Krystallblättchen bestehendes Präparat, welches kein Phenylalanin einschloss: denn eine Probe desselben verflüchtete sich beim Erhitzen im Glasröhrchen zu einem weissen Sublimat, ohne einen Rückstand zu hinterlassen. Die wässerige Lösung dieses Präparats gab beim Kochen mit Kupferacetat keine Fällung, was auf das Vorhandensein von Amidovaleriansäure hindeutet. Doch schied sich aus dieser Lösung eine krystallinische Kupferverbindung aus, als sie in der Wärme mit Kupferoxydhydrat gesättigt wurde. Ich trennte diese Kupferverbindung durch Filtration von der tiefblauen Mutterlauge, wusch sie anhaltend mit Wasser aus und zerlegte sie dann mittelst Schwefelwasserstoffs. Die wässerige Lösung der so gewonnenen Amidosäure gab beim Kochen mit Kupferacetat eine krystallinische Ausscheidung; die Amidosäure zeigte also das Verhalten des Leucins. Dass Leucin vorlag, wird auch durch das Resultat bewiesen, welches sich bei Analyse der in der beschriebenen Weise erhaltenen Kupferverbindung ergab:

0,1595 gr. Substanz gaben 0,0397 gr. CuO.

		Berechnet für $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$:	Gefunden:
Cu	=	19,6	19,9 %.

[1]) Journal f. pract. Chemie, N. F., Bd. 27, S. 353.

Da der Kupfergehalt ein wenig zu hoch gefunden wurde, so ist es möglich, dass das Präparat ein wenig amidovaleriansaures Kupfer (mit einem Kupfergehalt von 21,4 %) einschloss.

In dem oben beschriebenen Versuch war nur ein kleiner Theil der in der wässerigen Lösung enthaltenen Amidosäuren durch das Erhitzen mit Kupferoxydhydrat ausgefällt worden; der grössere Theil blieb gelöst in der tiefblauen Flüssigkeit. Ich befreite die letztere mittelst Schwefelwasserstoffs vom Kupfer und verdunstete sie sodann zur Krystallisation. Die Analyse des so gewonnenen Präparats lieferte folgende Resultate:

1. 0,1100 gr. Substanz gaben 0,2090 gr. CO_2 und 0,0986 gr. H_2O.
2. 0,3430 gr. gaben nach der Kjeldahl'schen Methode[1]) 0,3971 gr. N in Ammoniakform.

Aus diesen Daten berechnet sich für die analysirte Substanz eine Zusammensetzung, welche derjenigen eines Gemenges von 80 % Amidovaleriansäure und 20 % Leucin sehr nahe liegt, wie die folgende Zusammenstellung zeigt:

	Berechnet:	Gefunden:
C	52,02	51,81 %.
H	9,50	9,95 »
N	11,70	11,58 »
O	26,78	— »

Mit der Annahme, dass ein Gemenge von Amidovaleriansäure und Leucin vorlag, stimmte auch das Verhalten des untersuchten Präparats beim Erhitzen im Glasröhrchen, sowie beim Kochen mit Kupferacetat überein.

Aus den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen ist also zu schliessen, dass in dem aus den Wickenkeimlingen dargestellten Amidosäuren-Gemenge Leucin, Amidovaleriansäure und Phenylalanin enthalten waren. Allem Anschein nach prävalirte in dem Gemenge die Amidovaleriansäure, während Leucin und Phenylalanin in geringerer Menge vorhanden waren. Die Gesammtausbeute an Amidosäuren war

---

[1]) Dass die Kjeldahl'sche Methode zur Bestimmung des Stickstoffgehalts der Amidosäuren sehr geeignet ist, wird durch die von E. Bosshard (Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 24, S. 199) in meinem Laboratorium ausgeführte Untersuchung bewiesen.

nicht gross; sie betrug pro Kilogramm lufttrockner Keimlinge ungefähr 3 gr.

Es liegt wohl im Bereich der Möglichkeit, dass auch die durch v. Gorup-Besanez aus den Wickenkeimlingen dargestellte und nach ihrem Verhalten für Leucin erklärte Substanz ein Gemenge von Amidovaleriansäure und Leucin war. Doch lässt sich etwas Bestimmtes über diese Frage nicht aussagen, weil erstens von dem genannten Forscher zur Abscheidung der Amidosäuren ein anderes Verfahren angewendet wurde, als von mir, und weil zweitens die gleiche Keimpflanzen-Art nicht immer genau dieselben Bestandtheile enthält.

Dass die Amidosäuren, welche man aus den Wickenkeimlingen abscheiden kann, nicht erst während der Verarbeitung der letzteren entstehen, sondern in denselben fertig gebildet sind, kann wohl schon aus den von v. Gorup-Besanez gemachten Angaben mit Sicherheit geschlossen werden. Eine Bestätigung für diese Annahme liefert auch die Thatsache, dass ich aus den frisch in absoluten Alkohol geworfenen Keimpflanzen Amidosäuren abzuscheiden vermochte.

Nach den theils von v. Gorup-Besanez, theils von mir ausgeführten Untersuchungen finden sich in etiolirten Wickenkeimlingen Asparagin, Glutamin, Leucin, Amidovaleriansäure, Phenylalanin, Spuren von Tyrosin, ferner Guanidin, Cholin und Betain vor. Was die zuerst genannten sechs Stoffe betrifft, so darf es wohl für sehr wahrscheinlich erklärt werden, dass dieselben sämmtlich dem Zerfall von Eiweissstoffen ihre Entstehung verdanken. Ob die gleiche Entstehungsweise für das Guanidin anzunehmen ist, lässt sich nur durch weitere Untersuchungen entscheiden. Das Cholin darf als ein Zersetzungsproduct des während der Keimung zerfallenen Lecithins angesprochen werden[1]). Das Betain ist schon in den ungekeimten Samen enthalten.

---

[1]) Insoweit dasselbe nicht schon in den ungekeimten Samen vorhanden war.

Von den oben genannten Substanzen prävalirt der Quantität nach das Asparagin. Nach Bestimmungen, deren einzelne Ergebnisse ich hier nicht mittheilen will, fällt in 4—5 wöchentlichen Keimlingen mehr als die Hälfte des Gesammtstickstoffs auf dieses Amid. Die Amidosäuren finden sich daneben in weit geringerer Quantität vor. Auf die aus einem eiweissfreien Extract durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen fielen in 4 wöchentlichen Keimlingen ungefähr 11 % des Gesammtstickstoffs.

Schliesslich sei noch erwähnt, dass ich aus dem Niederschlag, welchen Phosphorwolframsäure in einem wässerigen Extract aus Wickenkeimlingen hervorbrachte, eine geringe Menge von Vicin isoliren konnte. Dieser an seinen Reactionen sehr leicht erkennbare Stoff[1]) findet sich in den ungekeimten Wickensamen in ziemlich beträchtlicher Menge vor; da ich aus den Keimlingen nur eine sehr geringe Quantität desselben erhielt, so muss man annehmen, dass er sich während des Keimungsvorgangs zum grössten Theil zersetzt hatte.

Nachtrag. Nach Versuchen, welche erst nach dem Niederschreiben der vorstehenden Abhandlung vollendet wurden, lässt sich das oben beschriebene Verfahren zur Abscheidung des Guanidins aus den Wickenkeimlingen in folgender Weise modificiren: Die bei Zerlegung des guanidinhaltigen Phosphorwolframsäure-Niederschlags mittelst Kalkmilch erhaltene Flüssigkeit wird mit Salzsäure neutralisirt und sodann zum Syrup eingedunstet. Letzteren extrahirt man in der Wärme mit Weingeist, versetzt den so gewonnenen Extract mit alkoholischer Quecksilberchlorid-Solution und lässt stehen, bis die Quecksilberdoppelsalze des Cholins und Betains sich ausgeschieden haben. Die von letzteren abgegossene Mutterlauge wird durch Eindunsten vom Weingeist, durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit und sodann mit Phosphorwolframsäure versetzt. Den durch dieses

---

[1]) Vgl. diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 147, sowie die Abhandlung Ritthausen's, Journ. f. pract. Chemie, N. F., Bd. 24, S. 202.

Reagens hervorgebrachten Niederschlag zerlegt man durch Kalkmilch, neutralisirt die dabei erhaltene alkalische Lösung, nachdem zuvor Kohlensäure eingeleitet und die durch letztere erzeugte Fällung abfiltrirt worden ist, mit Salpetersäure und dunstet sie im Wasserbade auf ein geringes Volumen ein. Nach dem Erkalten krystallisirt salpetersaures Guanidin aus.

In solcher Weise erhielt ich weit mehr salpetersaures Guanidin als früher[1]). Offenbar geht das Auskrystallisiren des genannten Salzes leichter vor sich, wenn Cholin und Betain zuvor aus der Flüssigkeit entfernt worden sind.

---

[1]) Die Ausbeute war ungefähr dreimal so gross. Allerdings hatten die für obigen Versuch verwendeten Keimlinge $1^1/_2$ Woche länger, als die früher benutzten, im Dunkeln vegetirt.

Der Nachweis von Traubenzucker im Blut.

Von

Dr. med. Max Pickardt (Berlin).

(Der Redaction zugegangen am 16. Juli 1892.)

Die an anderen Orten, wie vorzüglich in dieser Zeitschrift niedergelegten Resultate der von einer grösseren Anzahl von Autoren angestellten Untersuchungen über den Gehalt des Säugethierharns an CuO in alkalischer Lösung reducirenden Substanzen, im Besonderen an Kohlehydraten, haben in neuerer Zeit wichtige, bisher nicht gekannte Thatsachen bezüglich der qualitativen wie quantitativen Verhältnisse der letzteren im thierischen Organismus erwiesen. Es ist jedoch zu verwundern, dass man in dieser Hinsicht das Interesse fast lediglich dem Urin zuwandte, und dass die wichtigste aller Körperflüssigkeiten, das Blut, keine diesbezügliche Aufmerksamkeit seitens der physiologischen Chemiker gefunden hat. Diese Lücke auszufüllen hatte eine Arbeit zum Vorwurf, die ich auf Vorschlag des Herrn Professor Hoppe-Seyler im vergangenen Winter-Semester 1891/92 auszuführen die Absicht hatte. Aus äusseren Gründen jedoch ist es mir nicht vergönnt gewesen, dieselbe vorläufig zum Abschluss zu bringen, so dass ich mich darauf beschränken muss, in Kurzem über die Beantwortung des kleineren Theils der gestellten Frage zu berichten. Es bestand dieser darin, zu untersuchen, ob der von den meisten Autoren als thatsächlich angenommene Gehalt des Blutes an Traubenzucker mittelst neuerer chemischer Methoden zu beweisen sei. In sämmtlichen neueren Lehrbüchern finden sich dahin gehende Angaben — nur Hammarsten bezeichnet es als «wahrscheinlich» —, und auch alle Specialarbeiten nehmen

den Traubenzucker als einen erwiesenen Bestandtheil des Blutes an und operiren mit diesem Factor, obgleich bisher lediglich feststand, dass:

1. ein CuO in alkalischer Lösung reducirender,
2. ein das polarisirte Licht nach rechts drehender,
3. ein mit Hefe gährender

Körper vorhanden sei. Es war damit meiner Meinung nach weder erwiesen, dass diese drei Fähigkeiten Eigenschaften eines und desselben Körpers seien, noch dass, wenn das der Fall wäre, man das Recht habe, diesen mit der Dextrose zu identificiren. Diesen Nachweis zu führen gelang auf folgende Weise:

Das Blut, theils vom Schlachthofe bezogen und dann ungefähr 20 Minuten nach dem Schlachten des betreffenden Thieres (Rind) in Angriff genommen, theils grösseren Hunden bis zur Verblutung direct aus der Carotis entnommen, wurde nach dem von Abeles[1]) angegebenen Verfahren mittelst Zinkacetat von Eiweiss und Farbstoffen befreit. Die auf diese Weise gewonnene — von Abeles zur Titration benutzte — Lösung wurde zum Theil auf die drei oben angeführten Eigenschaften hin, und zwar mit positivem Erfolge, geprüft, zum Theil, nachdem sie auf dem Wasserbade — und zwar, um einer Zersetzung vorzubeugen, bei möglichst niedriger Temperatur — bis auf ein kleines Volumen eingedampft war, mit Phenylhydrazinchlorhydrat und Natriumacetat — beides in möglichst wenig Wasser gelöst — versetzt und gemäss den bekannten Vorschriften (E. Fischer, Baumann etc.) behandelt. Die dann nach Erkalten der Flüssigkeit sich abscheidenden Krystalle hatten sowohl die vom Glycosazon geforderte Farbe und mikroskopische Form, als auch stimmten sie in ihrem Schmelzpunkt (204—205°) mit demselben überein.

Nach alledem ist es nach den jetzigen Erfahrungen hiermit als exact bewiesen anzusehen, dass das Blut von Säugethieren — zum Mindesten von Rind und Hund — Dextrose enthalte.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 495 ff.

Mit dem, wie vorhin erwähnt, von mir angewandten Abeles'schen Verfahren erhielt ich in allen Fällen für kleine sowohl wie für grössere Mengen (2 Liter) Blut ein völlig von Eiweiss und Farbstoffen freies, klares Filtrat und kann in Folge dessen dasselbe für alle hierher gehörigen Untersuchungen auf das Wärmste empfehlen.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Hoppe-Seyler, gestatte ich mir bei dieser Gelegenheit für die in seinem Laboratorium mir gewordene reiche Anregung und freundliche Unterstützung meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Strassburg i. E., Juli 1892.

Zur Frage von der Schwefelwasserstoffvergiftung.

Von

Dr. Uschinsky (aus Petersburg).

(Aus dem Laboratorium des Herrn Professor Baumann.)
(Der Redaction zugegangen am 18. Juli 1892.)

Die Frage nach der Todesursache bei Schwefelwasserstoffvergiftung wurde in der letzten Zeit in den Arbeiten von Pohl[1]) und Lehmann[2]) einer erneuten Prüfung unterworfen. Die alte Anschauung, nach welcher der Tod bei dieser Vergiftung ein Erstickungstod sei, gegen welche zuerst Hoppe-Seyler sich ausgesprochen hat, ist durch diese Untersuchungen als irrig erwiesen worden. Nach Pohl wird bei Schwefelwasserstoffvergiftung erst Natriumsulfid gebildet, welches den Tod durch Nervencentrenlähmungen im Gehirn und zum Theil auch im Rückenmark verursacht. Nach Lehmann, der verschiedene Mengen von Schwefelwasserstoff die Thiere einathmen liess, ist der Tod bei dieser Vergiftung nicht allein auf die Lähmung des Centralnervensystems und auf Blutveränderungen oder dergleichen zurückzuführen, sondern auch auf Veränderungen in der Lunge (Lungenödem), von welchen weiter unten die Rede sein wird.

In den beiden genannten Arbeiten ist die Litteratur der Frage ziemlich vollständig angeführt, auf deren Wiedergabe ich hier verzichte.

---

[1]) Pohl, Ueb. die Wirkungsweise des Schwefelwasserstoffs und d. Schwefelalkalien, Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol., Bd. XXII, S. 1, 1887.

[2]) Lehmann, Experiment. Studien üb. d. Einfluss technisch und hygienisch wichtiger Gase und Dämpfe auf d. Organismus, Th. V; Schwefelwasserstoff, Arch. f. Hygiene, Bd. XIV, H. 2, 1892, S. 135.

Auf Vorschlag des Herrn Prof. Baumann habe ich einige Beobachtungen über die Wirkung des Schwefelwasserstoffs auf Thiere gemacht, um einerseits zu sehen, ob Schwefelwasserstoff wirklich eine narcotisirende Wirkung ausüben kann, wie es besonders von Prof. Schulz[1]) behauptet wird, der sogar die narcotisirende Wirkung des Sulfonals dem Schwefelwasserstoff, der, nach seiner Ansicht, im Organismus aus Sulfonal gebildet werde, zuschreibt, und andererseits die Blutveränderungen bei dieser Vergiftung zu studiren.

Leider habe ich von der Arbeit von Lehmann erst Kenntniss bekommen, als ich meine Versuche schon beinahe beendigt hatte, und deshalb konnte ich sie nicht so benutzen, wie ich es sonst gewünscht hätte. Meine Arbeit ist danach nur als eine kleine Ergänzung der schönen Arbeit von Lehmann anzusehen.

Ich habe zunächst einige Versuche angestellt, um über die Schnelligkeit der Veränderungen des Blutes durch bestimmte Mengen von Schwefelwasserstoff eine Vorstellung zu gewinnen. Zu diesem Zwecke wurde eine kleine Menge von Frosch-, Kaninchen- oder Rinderblut mit Wasser oder 0,6 % Chlornatriumlösung verdünnt, bis im Spectrum deutliche Streifen erschienen; zu dieser Flüssigkeit wurde eine bestimmte Menge von Schwefelwasserstoff in wässeriger Lösung zugegeben und die Zeit der ersten Erscheinung des Streifens von Schwefelmethämoglobin im Roth neben C im Spectrum beobachtet. Diese Zeit steht in voller Abhängigkeit von der Menge des zugesetzten Schwefelwasserstoffs und schwankt in ziemlich breiten Grenzen. Setzt man z. B. zu $^1/_2$ cbcm. des Blutes, welches mit physiologischer Chlornatriumlösung bis 10 cbcm. (also 20 mal) verdünnt ist, 2 mgr. Schwefelwasserstoff zu, so erscheint der Streifen im Roth schon nach 15—20 Sekunden, während wenn man zu derselben Menge desselben und ebenso verdünnten Blutes 0,2 mgr. Schwefelwasserstoff zusetzt, der Streifen erst nach 8—9 Minuten bemerkbar wird. Einmal

[1]) Schulz, Schlaf machende Wirkung von Schwefelwasserstoff, München. Medic. Wochenblatt, No. 16, 19. Apr. 1892.

gebildet ist aber diese Verbindung beständig und kann sogar der Fäulniss, wie Hoppe-Seyler gezeigt hat, lange Zeit widerstehen. Diese Verbindung wird nur im sauerstoffhaltigen Blut und nur von einem Theil des Hämoglobins gebildet, während ein anderer Theil sehr schöne Oxyhämoglobinstreifen zeigt und leicht, selbst blos beim Stehen in einem geschlossenen Gefäss, reducirt wird, und auch sehr leicht wieder den Sauerstoff annimmt. Wenn man grössere Mengen von Schwefelwasserstoff zugiesst, so zerlegt sich das Hämoglobin und man bekommt nur unbestimmte und undeutliche Streifen im Spectrum. Das Blut bekommt ein schmutziggrünes Aussehen und es fällt Schwefel und Albumin aus (Hoppe-Seyler). Wenn aber auch hier Spuren von Hämoglobin erhalten bleiben, so zeigen sie noch immer die normalen Eigenschaften.

Meine Thierversuche habe ich an Fröschen und Kaninchen angestellt. Die Frösche wurden in den oberen Theil eines ziemlich grossen Exsiccators gesetzt, in die untere Abtheilung desselben wurde Schwefelwasserstoffwasser gegossen. Die Frösche werden bald unruhig, die Athmung wird zuerst beschleunigt, bald aber, nach 4—6 Minuten, verlangsamt. Die Körperbewegungen werden schlaff und apathisch, obschon die Reflexe noch erhalten sind, und endlich liegen die Frösche bewegungslos auf dem Bauch. Nimmt man sie jetzt heraus, so erholen sie sich sehr leicht und springen nach Verlauf von einigen Minuten ganz gut. Lässt man sie im Apparate liegen, so gehen sie nach 30—40 Minuten zu Grunde, wobei man im Blute immer ganz deutlich den Streifen im Roth und die beiden Oxyhämoglobinstreifen sieht.

Den Kaninchen habe ich Schwefelwasserstoff in wässeriger Lösung von bestimmtem Gehalt (gewöhnlich 2,2—2,7 mgr. Schwefelwasserstoff in 1 cbcm., was durch Titrirung mit Jodlösung jedesmal geprüft wurde) in's Rectum, unter die Haut, in die Bauchhöhle und in's Blut injicirt. Wenn man ungefähr 14—18 mgr. Schwefelwasserstoff in's Rectum injicirt, so erscheinen die Vergiftungssymptome schon nach einer Minute. Das Thier wird unruhig, macht einige falsche Schritte und legt sich auf die Seite. Die Athmung wird seltener; die Reflexe

sind gut erhalten. Lässt man das Thier ruhig liegen, so erholt es sich allmälig nach $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden. Bei grösseren Dosen, 20—25 mgr., Schwefelwasserstoffs treten Krämpfe ein, wobei alle Muskeln Theil nehmen; es zeigen sich besonders Opistotonus und starker Spasmus des Diaphragma; manchmal wirft sich das Thier nach allen Seiten und springt wie ein Ball bis $^3/_4$ Meter vom Boden in die Höhe. Nach den Krämpfen liegt das Thier ganz matt, indem es selten athmet, auf dem Boden, kann aber doch manchmal sich noch erholen, öfters aber geht es allmälig zu Grunde.

Bei noch grösseren Dosen, 20—25 mgr., Schwefelwasserstoffs treten Opistotonus, Krämpfe in allen Muskeln, Spasmus des Diaphragmas und sehr bald auch der Tod ein. Der Spasmus des Diaphragmas lässt sich durch die Ausdehnung des Bauches bei stark contrahirten äusseren Bauchmuskeln (recti und obliqui abdominis) und durch die vergeblichen Athemversuche, wobei nur die Gesichtsmuskeln contrahirt werden, erkennen. Bei der Section, welche gewöhnlich unmittelbar nach dem Tode gemacht wurde, konnte man immer noch schwache Herzcontractionen sehen. Das Herz, besonders die rechte Hälfte, war immer stark mit Blut überfüllt. Lungenödem habe ich nie bemerkt, die Lungen waren ziemlich blutreich, aber ganz trocken, ihre Ränder waren manchmal ein wenig emphysematös. Unmittelbar nach dem Tode sieht man entweder keinen oder nur einen kaum bemerkbaren Streifen im Roth neben den Oxyhämoglobinstreifen im Blutspectrum, lässt man aber die Leiche liegen, so erscheint der Streifen bei C nach 10—15 Minuten deutlicher, zuerst in den Gefässen, welche nahe am Rectum liegen, später auch in den anderen.

Wenn man Schwefelwasserstoffwasser in's Blut injicirt, so hängt die Toxicität desselben von der Schnelligkeit des Einspritzens ab. 8—12 mgr. Schwefelwasserstoff in die Vena femoralis während 15—20 Sekunden injicirt, verursachen den Tod eines Kaninchens von 1700—2000 mgr. Körpergewicht, während man 20 mgr. Schwefelwasserstoff in dieselbe Vene, oder in die Art. femoralis, ohne dass der Tod eintritt, einführen kann, wenn man nur 1 mgr. während einer Minute

injicirt. In diesen Fällen konnte man manchmal im Blute einen sehr schwachen Streifen bei C sehen.

Nur wenn man Schwefelwasserstoff in die Art. carotis injicirt, so übt er eine stärkere Wirkung, als wenn er in die anderen Theile des Gefässsystems eingeführt wird. Hier genügen schon 7—10 mgr. Schwefelwasserstoff selbst bei langsamem (während 3—4 Minuten) Einspritzen, um ein Kaninchen unter den oben beschriebenen Symptomen zum Tode zu bringen. Einen solchen Unterschied in der Wirkung des Schwefelwasserstoffs vom arteriellen und vom venösen Blute aus hat auch Cl. Bernard[1]) gesehen, indem er sagt, dass der Schwefelwasserstoff nur im arteriellen Blute giftig wirke.

Dieser Umstand scheint mir indessen dafür zu sprechen, dass der Tod gerade durch die Lähmung des Centralnervensystems verursacht wird. Die peripheren Nerven sowie die Muskeln scheinen verhältnissmässig weniger afficirt zu werden, was durch das Ueberleben des Herzens, sowie dadurch, dass z. B. beim Einführen sogar grosser Mengen von Schwefelwasserstoff in die Art. femoralis nur eine ziemlich bald vorübergehende Paresis der Pfote eintritt.

Einspritzungen von Schwefelwasserstoff in die Bauchhöhle verursachen dieselben Erscheinungen und ebenso raschen toxischen Effect, wie das Einspritzen direct in's Blut. Die toxische Dosis ist auch ungefähr 10—12 mgr. für ein mittelgrosses Kaninchen.

Alle Beobachter bemerken, dass bei Schwefelwasserstoffvergiftungen die Exspirationsluft Schwefelwasserstoff enthält. Ueber die Menge von Schwefelwasserstoff, welche auf diesem Wege aus dem Blute wieder ausgeschieden werden kann, liegen aber keine Erfahrungen vor. Ich habe auch bemerkt, dass unmittelbar nach Injectionen von Schwefelwasserstoff die ausgeathmete Luft Spuren von Schwefelwasserstoff enthält, welche durch den Geruch und die Schwärzung von Bleipapier nachgewiesen werden können. Bei einem Versuch, bei welchem einem Kaninchen eine tödtliche Dosis[2]) (15 mgr. ungefähr)

---

[1]) Cl. Bernard, Leçons de Toxicologie.

[2]) Das Thier athmete noch nach 10 Minuten.

Schwefelwasserstoffs beigebracht und die ausgeschiedene Luft durch Bleilösung geleitet wurde, zeigte sich, dass der Gehalt der ausgeathmeten Luft an Schwefelwasserstoff so gering war, dass es nicht möglich war, ihn auch nur annähernd zu bestimmen. Dieser Versuch zeigt, dass nur ein sehr geringer Theil des eingeführten Schwefelwasserstoffs durch die Lungen wieder ausgeschieden wird.

Die Section ergab bei den zuletzt genannten Versuchen dieselben Erscheinungen, wie es oben beschrieben ist. Lungenödem habe ich auch hier nie gesehen; wohl öfters waren die Lungen blutreich, die Ränder ein wenig emphysematös, was man gewiss dem Diaphragma-Spasmus und dem Inspirationskrampfe, welche man immer vor dem Tode bemerken konnte, zuschreiben konnte.

Nach meinen Versuchen also kann das Lungenödem nicht als Todesursache gelten und der Umstand, dass Lehmann es immer gesehen hat, steht gewiss in Beziehung mit der Art der Vergiftung, welche er angewendet hat, so zwar, dass bei der Vergiftung durch die eingeathmete Luft einerseits das zarte Lungengewebe örtlich gereizt wurde, andererseits die Agonie verhältnissmässig viel länger als bei meinen Versuchen gedauert hat.

Das Blut zeigte unmittelbar nach dem Tode zwei Oxyhämoglobinstreifen, konnte sehr leicht reducirt und wieder durch Schütteln mit Luft oxydirt werden; gerann auch normal. Selten konnte man gleich nach dem Tode den Schwefelmethämoglobinstreifen sehen; lässt man aber das Blut in einem Gefässe stehen, so ist der Streifen nach einiger Zeit manchmal sehr gut zu sehen. Das zeigt also, dass, wie Hoppe-Seyler schon vor langer Zeit angegeben hat, Schwefelwasserstoff, ehe das Schwefelmethämoglobin sich bildet, seine giftige Wirkung ausübt, indem er im Blutserum als solcher oder als Natriumsulfid[1]) gelöst ist. Die Blutveränderungen treten erst nach dem Tode ein und es wird nur ein geringster Theil des Blutes verändert; dieser Umstand ist ein weiterer Beweis dafür, dass auch die Blutveränderungen nicht die Todesursache

---

[1]) Vergl. Diakonow, Medic.-chemisch. Untersuch. von Hoppe-Seyler, S. 251.

sein können. Wir wissen ja, dass die Thiere beinahe das Doppelte von der zum Leben nothwendigen Menge von Blut besitzen.

Das Blut, welches mit Schwefelwasserstoff behandelt ist, besitzt keine giftigen Eigenschaften. Pohl (l. c.) hat schon nachgewiesen, dass das mit Schwefelnatrium behandelte Blut weniger giftig wirkt als die Application von Natriumsulfid selbst. Der Umstand, dass Pohl aber immerhin noch giftige Wirkung sah, als er das mit Schwefelnatrium geschüttelte Blut Thieren injicirte, findet ohne Zweifel seine Erklärung dadurch, dass so behandeltes Blut, wie Pohl angibt, noch nach Schwefelwasserstoff roch und somit noch unverändertes Schwefelnatrium enthielt, wodurch die unmittelbare Wirkung dieser Substanz noch zur Geltung kam.

Durch meine Versuche wird vollkommen bewiesen, dass die Giftigkeit des Schwefelwasserstoffs überhaupt nicht auf der Bildung des Schwefelmethämoglobins beruhen kann, weil man eben von schwefelmethämoglobinhaltigem Blute, welches aber frei von Schwefelwasserstoff und Schwefelnatrium ist, so grosse Mengen den Thieren injiciren kann, dass man im circulirenden Blut das Schwefelmethämoglobin auf's deutlichste wahrnehmen kann, ohne dass die Thiere den geringsten Schaden nehmen.

Ich habe frisches defibrinirtes Kaninchenblut mit solchem Quantum Schwefelwasserstoff in physiologischer Chlornatriumlösung gemischt, dass in jeden 10 cbcm. der Mischung 11 mgr. Schwefelwasserstoff waren, liess diese Mischung 4 Stunden lang in einem geschlossenen Gefässe stehen, wobei die Mischung eine dunkelgrüne Farbe angenommen hat, und habe von dieser Mischung 13—14 cbcm., was also ungefähr 15 mgr. Schwefelwasserstoff entspricht, in die Vena cruralis eines mittelgrossen Kaninchens eingespritzt (2 Versuche).

Die Thiere zeigten keine Vergiftungssymptome und blieben ganz munter. Unmittelbar nach dem Einspritzen konnte man im Blutspectrum (eine Probe Blut wurde aus einer Ohrenvene genommen) den Schwefelmethämoglobinstreifen sehen, aber schon eine Stunde später war er nicht mehr zu sehen. Leider konnte ich den Harn von den Kaninchen nicht sammeln; der

Harn war bald nach dem Versuch ein wenig röthlich. Ein Theil des eingeführten Schwefelwasserstoffs wird gewiss als Schwefelmethämoglobinverbindung durch die Nieren, vielleicht auch durch die Leber ausgeschieden.

Was die narcotisirende Wirkung des Schwefelwasserstoffs betrifft, so habe ich sie nie bemerken können, weder bei kleinen, noch bei grösseren Dosen. Das Stillliegen der Frösche und der Kaninchen, ihr apathischer Zustand hat keine Aehnlichkeit mit einer Narcose; vielmehr handelt es sich um Schwäche und Ermattung, wobei das Bewusstsein nicht verloren ist und wobei überhaupt keine Betäubung der Hirnrinde existirt[1]).

Die von Schulz angegebene Bildung von Schwefelwasserstoff aus Sulfonal durch absterbende Gewebe habe ich auch nicht bestätigen können. Ich habe die Leber und manche Muskeln von einem unmittelbar vor dem Versuche getödteten Kaninchen genommen, sie rasch zerkleinert in frisch defibrinirtes Kaninchenblut gelegt, eine gesättigte Lösung von Sulfonal in physiologischer Chlornatriumlösung zugesetzt und 2—3 Stunden in einem Brutofen bei 39—40° C., wobei durch's Blut ein Luftstrom geführt war, digerirt. In der durchgeleiteten Luft habe ich keine Spuren von Schwefelwasserstoff durch Bleipapier nachweisen können und habe auch keinen Schwefelwasserstoffgeruch bemerkt. Es ist nicht zweifelhaft, dass das von Schulz beobachtete Auftreten von Schwefelwasserstoff eine Folge eines eingetretenen Fäulnissprocesses war. Für die Unrichtigkeit der Angaben von Schulz sprechen aber auch noch andere sehr gewichtige Thatsachen. Baumann und Kast[2]) haben gefunden, dass der dem Sulfonal ganz analog zusammengesetzte Dimethylsulfondimethylmethan auf Hunde und Menschen ganz wirkungslos ist, weil er keine Aethylgruppen enthält. Wenn die Wirkung des Sulfonals, Trionals

[1]) Wollte man diese Erscheinungen bei der Schwefelwasserstoffvergiftung als eine narcotisirende Wirkung bezeichnen, so würde man eine solche Wirkung auch noch manchmal anderen Giften, z. B. dem Phosphor, zuschreiben können, wo in Wirklichkeit an eine solche Wirkung nicht zu denken ist.

[2]) Zeitschrift f. physiolog. Chemie, Bd. 14, S. 52.

und Tetronals, wie Schulz meint, auf der Bildung von Schwefelwasserstoff beruhte, so wird es ganz unverständlich, weshalb die Methylverbindung nicht ebenso wirksam ist als die Aethylverbindung. Eine Vergleichung der Formeln des wirksamen und des unwirksamen Disulfons wird das Gesagte ohne Weiteres erläutern:

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} > C < \begin{matrix} SO_2CH_3 \\ SO_2CH_3 \end{matrix} \qquad \begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} > C < \begin{matrix} SO_2C_2H_5 \\ SO_2C_2H_5 \end{matrix}$$

Dimethylsulfondimethylmethan (unwirksam). — Sulfonal.

Einen anderen Beweis dafür, dass die Sulfonalwirkung unmöglich auf der Abspaltung von Schwefelwasserstoff beruhen kann, liefert die Thatsache, dass auch nach langem Gebrauch von Sulfonal die Ausscheidung der Schwefelsäure im Harn nicht vermehrt wird[1]). Würde Schwefelwasserstoff aus dem Sulfonal abgespalten, so müsste, wie die Versuche von Regensburger[2]) und andere Beobachtungen lehren, bald eine sehr erhebliche Vermehrung der Schwefelsäure im Harne eintreten.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, dem hochgeehrten Herrn Prof. Baumann für die gütige Anregung zu der vorliegenden Arbeit, sowie für seinen bei Abfassung derselben mir in liebenswürdigster Weise ertheilten Rath und vielfache Unterstützung meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

---

[1]) Smith, Therapeutische Monatshefte.

[2]) Zeitschrift f. Biologie, Bd. 12, S. 479.

Ueber den Nachweis der Kohlehydrate im Harn und die Beziehung derselben zu den Huminsubstanzen.

Von

Prof. E. Salkowski.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 21. Juli 1892.)

Vor einigen Jahren habe ich[1]) beobachtet, dass in ammoniakalischer Gährung begriffener Harn nicht unbeträchtliche Quantitäten von Fettsäuren, hauptsächlich Essigsäure, enthält. Für einen Harn, der 5 Wochen lang bei Sommertemperatur gestanden hatte, ergab sich ein Gehalt an flüchtigen Fettsäuren, auf Essigsäure berechnet, von 1,605 p. M. Für einen anderen Harn, welcher 4½ Monate gestanden hatte, fand Taniguti[2]) noch etwa ein Viertel mehr, nämlich 2,17 p. M.

In einer im Novemberheft 1891 dieser Zeitschrift erschienenen, aus dem Laboratorium von Baumann hervorgegangenen Abhandlung hat Treupel[3]) dieser Befunde Erwähnung gethan, indessen in einer Form der Darstellung, deren Berechtigung ich nicht anzuerkennen vermag. Treupel beginnt seine Arbeit mit den Worten: «Dass bei der Fäulniss des Harns merkliche Mengen von Fettsäuren gebildet werden, ist seit längerer Zeit bekannt. Nach Neubauer's Beobachtungen (Neubauer und Vogel, Analyse des Harns, 7. Aufl., 1876, S. 8) kann man aus jedem alten Harn, insbesondere dem diabetischen, Essigsäure in erheblicher Menge mit Leichtig-

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 265.

[2]) Ebendas., Bd. XIV, S. 471.

[3]) Ebendas., Bd. XVI, S. 47.

keit abscheiden.» Weiterhin erwähnt Treupel die Beobachtungen von Röhmann, auf die ich später noch zu sprechen komme, und fährt dann fort:

«Salkowski hat vor wenigen Jahren die Untersuchung dieser Beziehungen wieder aufgenommen und in Uebereinstimmung mit älteren Autoren gefunden, dass der gefaulte Harn grosse Mengen von Essigsäure neben einigen anderen Fettsäuren enthält und dass diese Säuren im Wesentlichen aus den Kohlehydraten des Harns gebildet werden.»

Gegen diese Darstellung, welche meine Befunde lediglich als eine Bestätigung älterer Angaben erscheinen lässt, habe ich Folgendes einzuwenden.

Es ist richtig, dass Neubauer an der von Treupel citirten Stelle sagt, dass sich Essigsäure «aus jedem alten Harn, namentlich aus altem diabetischem Harn, in erheblicher Menge abscheiden lässt», diese Angabe war mir aber nicht bekannt und wie wenig sie allgemein bekannt und anerkannt war, geht daraus hervor, dass sie sich in der 8. von Huppert herausgegebenen Auflage von Neubauer und Vogel[1]), welcher man Ungenauigkeit oder Unvollständigkeit gewiss nicht vorwerfen wird, nicht findet; auch in den bekannten Lehrbüchern von Löbisch und Schotten ist der Bildung von Essigsäure bei der ammoniakalischen Harngährung nicht Erwähnung gethan. Ebenso habe ich Maly's Jahresberichte vergeblich nach analogen Beobachtungen durchsucht. Endlich kann ich mich noch auf eine Aeusserung von Huppert in der neuesten (9.) Auflage von Neubauer und Vogel berufen. Huppert sagt, l. c., S. 5: «Die Lehre von der sauren Harngährung hat durch neue von Salkowski entdeckte Thatsachen einen anderen Inhalt bekommen.» Diese Aeusserung zeigt, dass ich mich in der Anschauung, dass meine Beobachtungen etwas Neues enthielten und nicht einfache Bestätigungen bereits

---

[1]) In der 9. Auflage findet sich S. 105 die Bemerkung: «Bei der ammoniakalischen Gährung des Harns bilden sich grosse Mengen flüchtiger Fettsäuren (Liebig, C. G. Lehmann, Neubauer, Salkowski).» Die 9. Auflage kommt aber hier nicht in Betracht, da meine Publication vor dem Erscheinen der 9. Auflage erfolgt ist.

bekannter Thatsachen seien, doch nicht allein befunden habe, dass sie vielmehr von dem hervorragendsten Autor der Lehre vom Harn getheilt worden ist und dass ich ausserdem bona fide gehandelt habe, wenn ich meine Beobachtungen als neue publicirte, während die von Treupel gebrauchte Redewendung, dass ich «die Untersuchung dieser Beziehungen wieder aufgenommen» habe, den Anschein erwecken könnte, dass ich ältere Beobachtungen wissentlich verschwiegen habe. Das ist selbstverständlich nicht der Fall.

Immerhin lässt sich nicht in Abrede stellen, dass eine positive, wenn auch halb vergessene und nicht genau präcisirte Angabe von Neubauer über den Gehalt gefaulten Harns an Essigsäure vorliegt. Durchaus sachlich unbegründet ist es aber, wenn Treupel eine Publication von Röhmann[1]) als Vorläufer der meinigen citirt, bezüglich deren mich ja ohne Zweifel der Vorwurf wissentlichen Verschweigens treffen würde, wenn sie in der That als Vorläufer der meinigen anzusehen wäre. Röhmann's, damals unter Leitung von Baumann ausgeführte Arbeit hat aber mit der meinigen durchaus nichts zu thun und es lag für mich nicht die geringste Veranlassung vor, sie zu citiren.

Röhmann's Arbeit behandelt die sogenannte saure Harngährung der älteren Autoren. Er beschränkte sich auf Bestimmungen der Acidität und verfolgte die Zunahme resp. Abnahme derselben beim Aufbewahren des Harns. Es ist einleuchtend, dass diese Art der Untersuchung keineswegs geeignet ist, unter allen Umständen Aufschluss darüber zu geben, ob beim Stehen des Harns sich Säuren bilden. Denn etwa gebildete Säure kann sehr wohl durch Zunahme des Ammons verdeckt werden. In wie hohem Grade dieses der Fall sein kann, sieht man aus meinen Versuchen, in denen sich reichlich Säure bildete, trotzdem die Reaction alkalisch wurde, als Begleiterscheinung der ammoniakalischen Harngährung. In der That hat Röhmann auch nur in wenigen Fällen die Acidität des Harns zunehmen sehen und nach der Art der Frage-

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. V, S. 102.

stellung und entsprechend der gewählten Methode hörten Röhmann's Versuche da auf, wo meine anfangen, nämlich bei der ammoniakalischen Harngährung: wenn der Harn ammoniakalisch wurde, hatte Röhmann kein Object der Titrirung mit Natronlauge mehr. Endlich handeln meine Beobachtungen ausschliesslich von der Bildung flüchtiger Fettsäuren; die von Röhmann in einigen Fällen beobachtete Zunahme der Acidität braucht nicht auf Bildung flüchtiger Fettsäuren zu beruhen, sie kann ebenso gut auf Milchsäurebildung, vielleicht auch auf Oxydation von Ammoniak zu salpetriger Säure zurückzuführen sein. Kurzum die Versuche von Röhmann haben nach der Art der Fragestellung, dem Versuchsplan und der Art der Ausführung mit den meinigen durchaus nichts zu thun, wodurch selbstverständlich der Werth derselben nicht herabgesetzt wird, ich kann sie nicht als Vorläufer der meinigen anerkennen und es lag für mich keine Veranlassung vor, sie zu citiren.

Als Quelle der flüchtigen Fettsäuren habe ich damals die Kohlehydrate des Harns betrachtet, hauptsächlich aus dem Grunde, weil der gefaulte Harn nur noch eine sehr schwache Furfurolreaction gab. Selbstverständlich musste ich mir die Frage vorlegen, ob der Gehalt des Harns an Kohlehydraten auch ausreicht, um die Entstehung verhältnissmässig grosser Mengen von Fettsäuren zu erklären. Treupel meint nun, dass ich bei dieser Ueberschlagsrechnung «von der nicht zutreffenden Voraussetzung ausgegangen» sei, dass der Kohlehydratgehalt des Harns nur aus Traubenzucker bestehe, während er überwiegend eine dextrinartige Substanz enthalte, «welche mit dem thierischen Gummi von Landwehr identisch ist». Das ist nicht richtig.

Allerdings habe ich bei der Ueberlegung, ob die Kohlehydrate, deren Gegenwart im Harn damals durch Molisch und v. Udránszky sehr wahrscheinlich gemacht war, die Fettsäuren liefern könnten, den Traubenzucker in erster Linie in Betracht gezogen, aber ich habe auch der Möglichkeit, dass der Harn noch andere Kohlehydrate ausser Traubenzucker enthalten könnte und diese an der Bildung der Fett-

säuren betheiligt sein könnten, ausdrücklich gedacht und zwar aus dem Grunde, weil nach meiner Rechnung der etwa im Harn enthaltene Traubenzucker zur Erklärung des Gehaltes an Essigsäure in gefaultem Harn nicht ausreicht (l. c., XIII, S. 271 Ende und 272 Anfang). Mehr konnte man, der damaligen Sachlage nach, von mir nicht verlangen. Allenfalls hätte ich speciell des «thierischen Gummis» von Landwehr im Harn als mögliche Quelle der Fettsäuren gedenken können, aber nach der damals und bis jetzt allein vorliegenden Mittheilung von Landwehr im Centralbl. für d. med. Wissensch., 1885, No. 21, schien es, dass sich das Gummi stets nur in äusserst kleinen Mengen im Harn vorfindet, somit nicht erheblich in Betracht kommt.

Daran, dass die flüchtigen Fettsäuren des gefaulten Harns aus den Kohlehydraten des Harns stammen, dürfte nun wohl nicht zu zweifeln sein. Bereits in meiner ersten Mittheilung habe ich indessen auf einen Widerspruch aufmerksam gemacht, in welchen diese Annahme mit anderen Angaben geräth. Aus derselben Quelle nämlich, den Kohlehydraten, stammen nach v. Udránszky[1]) die von ihm beim Kochen des Harns mit Salzsäure erhaltenen stickstoffhaltigen Huminsubstanzen. Man sollte danach erwarten, dass der gefaulte Harn, dessen Kohlehydrate grösstentheils in Fettsäuren übergegangen sind, keine Huminsubstanzen mehr liefere oder sehr viel weniger. Das ist nun nach meinen Beobachtungen und den ausführlicheren von Taniguti[2]) nicht der Fall. Allerdings haben die aus dem gefaulten Harn erhaltenen Huminsubstanzen eine andere Zusammensetzung, aber sie haben doch unzweifelhaft den Charakter von N-haltigen Huminsubstanzen.

Treupel weist in seiner öfters citirten Abhandlung darauf hin, dass die Furfurolreaction mit α-Naphtol und Schwefelsäure sehr subtil sei, und ist der Meinung, dass meine Angabe über den negativen Ausfall dieser Reaction in dem lange gefaulten Harn auf dieser Schwierigkeit in der Anstellung der Reaction beruhen könne. Treupel hat auch nachgewiesen,

[1]) Diese Zeitschr., Bd. XII, S. 36 u. ff.
[2]) Diese Zeitschr., Bd. XIV, S. 484.

dass ein Harn, welcher lange Zeit der Fäulniss unterworfen gewesen ist, immer noch einen Theil der Kohlehydrate unverändert enthält. Dieser Bruchtheil des Kohlehydratgehaltes würde aber die relativ grosse Quantität von Huminsubstanz, die Taniguti aus gefaultem Harn erhalten hat, nicht erklären. Man muss sich doch nothwendig die Frage vorlegen, inwieweit es festgestellt ist, dass die N-haltige Huminsubstanz, die sich beim Kochen des Harns mit Säure ausscheidet, aus dem Kohlehydratbestand des Harns stammt.

Den Umstand, dass die aus dem Harn enthaltenen Huminsubstanzen trotz ihrer supponirten Abstammung aus Kohlehydraten N-haltig sind, hat v. Udránszky in einer meiner Ansicht nach ausreichenden Weise aufgeklärt, es ist auch nicht daran zu zweifeln, dass die Kohlehydrate des Harns, deren Existenz nach den zahlreichen aus dem Baumann'schen Laboratorium hervorgegangenen Arbeiten feststeht, beim Kochen mit Säuren Huminsubstanz liefern, dagegen kann ich die Stichhaltigkeit der Beweisführung Udránszky's, dass die Kohlehydrate die einzige Quelle der Huminsubstanz seien, nicht anzuerkennen. In allen Theilen wird v. Udránszky dieselbe wohl selbst nicht mehr aufrecht erhalten; ich würde auch auf seine Beweisführung nicht wieder zurückkommen, wenn meine thatsächlichen Beobachtungen über diesen Punkt nicht von denen Udránszky's erheblich abwichen. Zunächst berücksichtigt Udránszky nur die reducirenden Kohlehydrate. Daraus ist ihm allerdings kein Vorwurf zu machen, da man zur Zeit seiner Abhandlung die nicht reducirenden, abgesehen von Landwehr's thierischem Gummi, noch nicht kannte, aber man kann die Stichhaltigkeit einer Beweisführung, die sich hierauf stützt, nicht mehr anerkennen. Dann aber bezieht er auffallender Weise das Reductionsvermögen des Harns nur auf Kohlehydrate, während doch auch das Kreatinin und die Harnsäure in erheblichem Grade betheiligt sind; letztere kommt allerdings nur zum kleinen Theil in Betracht. Er findet nun, dass der mit Salzsäure ausreichend gekochte Harn (Harn mit 10 Vol.-% Salzsäure 18 Stunden am Rückflusskühler gekocht) Kupferoxyd nicht mehr reducirt, und schliesst daraus, dass

die reducirenden Kohlehydrate unter Bildung von Huminstanzen zerstört sind. Beruhte die Reductionsfähigkeit des Harns wirklich nur auf reducirenden Kohlehydraten und würde sie durch Kochen mit Salzsäure aufgehoben, so wäre gegen diese Schlussfolgerung nichts einzuwenden. Weiterhin hat v. Udránszky gefunden, dass wenn man das Reductionsvermögen des genuinen Harns auf Traubenzucker umrechnet, die von diesem Harn beim Kochen mit Salzsäure gelieferte Huminsubstanz stets annähernd $^1/_7$ des Kohlehydratgehaltes beträgt, dass sich also eine bestimmte Gewichtsbeziehung zwischen Kohlehydraten und Huminsubstanz nachweisen lasse. Hier können wohl nur Zufälligkeiten im Spiel gewesen sein, obwohl sie schwer verständlich sind, da ja, wie gesagt, das Reductionsvermögen nicht nur von Kohlehydraten abhängt.

Nun habe ich mich aber auch von der Richtigkeit der Angabe v. Udránszky's, dass der 18 Stunden mit 10 Vol.-% Salzsäure gekochte Harn, von der Huminsubstanz abfiltrirt, nicht mehr reducire, durchaus nicht überzeugen können, ich habe im Gegentheil das Reductionsvermögen dieser Filtrate recht stark gefunden. Nimmt man eine Probe von dem auf das Volumen des ursprünglichen Harns aufgefüllten salzsauren Harnfiltrat, neutralisirt sie und kocht mit Fehling'scher Lösung, so tritt allerdings keine Ausscheidung von Oxydul ein, wohl aber grünliche Verfärbung. So verhält sich aber auch normaler Harn. Säuert man nun die Probe mit Salzsäure an und setzt Kaliumsulfocyanat hinzu, so entsteht ein starker weisser Niederschlag von Kupferrhodanür. — Macht man die Probe des salzsauren Filtrates stark alkalisch, setzt ziemlich viel Kupfersulfat hinzu und kocht energisch, so tritt grünliche Verfärbung ein und, wenn man die Probe stehen lässt, massenhafte Ausscheidung von eigelb gefärbtem Kupferoxydulhydrat. Der mit Salzsäure gekochte Harn verhält sich also gerade so, wie der normale Harn.

Als Ursache des abweichenden Befundes ist in Betracht zu ziehen, dass v. Udránszky das salzsaure Filtrat vor der Prüfung seines Reductionsvermögens mit Thierkohle entfärbt hat, während ich dasselbe direct untersuchte. In der That

fand ich auch das Reductionsvermögen der mit Kohle entfärbten Lösung erheblich geringer, aber keineswegs ganz fehlend. Diese Differenz des Verfahrens klärt also die Abweichung der Beobachtung nicht auf. Jedenfalls aber ist die Anwendung von Kohle bei der Prüfung des Reductionsvermögens unzulässig.

Zur genaueren Bestimmung des Reductionsvermögens bediente ich mich zunächst der von Flückiger[1]) angegebenen Methode, welche auch v. Udránszky angewendet hat und betreffs deren Einzelheiten ich wohl auf das Original verweisen kann. Es wurde zunächst das Reductionsvermögen von den bei der Bestimmung der Huminsubstanz erhaltenen Filtraten bestimmt, welche auf das ursprüngliche Harnvolumen aufgefüllt waren, und zwar 1. an einer Quantität, welche aus 3 Litern stammte, 2. an einer zweiten Quantität aus 1 Liter, 3. an einer dritten, gleichfalls aus 1 Liter Harn. Es kamen jedesmal 20 cbcm. dieser salzsauren Filtrate, 20 cbcm. Fehling'sche Lösung und 80 cbcm. Wasser in Anwendung. Die Bestimmung gelang bei diesen Flüssigkeiten ohne besondere Schwierigkeiten, d. h. es wurde ein klares oder fast ganz klares hellgelbes Filtrat erhalten. Allerdings enthält dasselbe eine Spur gelöstes Kupferoxydul und selbstverständlich, da das gelöste Kupferoxydul sich sehr schnell oxydirt, auch von Kupferoxyd. Wurde das Filtrat mit Salzsäure angesäuert, dann mit Ammoniak alkalisirt, so zeigte es einen minimalen bläulichen Schimmer und färbte sich beim Stehen an der Oberfläche und allmälig weiter in die Tiefe schreitend stärker blau. Diese Spur von Oxydul bleibt aber stets im Filtrat, wenn man auch noch so viel Zuckerlösung hinzusetzt. Hiervon abgesehen gelang, wie gesagt, die Bestimmung ohne besondere Schwierigkeit. Es ergab sich so ein scheinbarer Zuckergehalt:

für 1 = 0,26 %,
für 2 = 0,24 %,
für 3 = 0,24 %.

Diese Zahlen liegen sehr nahe denen, welche Flückiger für den Gehalt des normalen Harns an reducirender Substanz,

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. IX, S. 335.

ausgedrückt als Traubenzucker, angiebt. Dennoch lag mir daran, diese Uebereinstimmung selbst zu constatiren, was wenigstens für Harn 3 möglich erschien, da von diesem Harn ein Theil zur Bestimmung des Reductionsvermögens reservirt war. J. Munk[1]) hat nun bei Anwendung des Verfahrens von Flückiger sehr ungünstige Erfahrungen gemacht, auch mir gelang die Bestimmung im vorliegenden Falle und in einigen anderen nicht.

Unter diesen Umständen erinnerte ich mich eines Verfahrens, welches ich früher einmal zur Bestimmung der reducirenden Substanz angegeben habe[2]) und welches auf der Ausfällung des Kupferoxyduls als Kupferrhodanür, Wägung desselben nach längerem Trocknen bei 115° beruht. Das an dem angeführten Ort beschriebene Verfahren habe ich seitdem dahin modificirt, dass ich statt des dort angegebenen Gemisches von Natronlauge und Kupfersulfat Fehling'sche Lösung anwende, weil es bei Anwendung der l. c. angeführten Mischung doch öfters vorkommt, dass sich plötzlich schwarzes Kupferoxyd ausscheidet und eine Reduction überhaupt nicht eintritt.

Das angewendete Verfahren ist nun folgendes: 20 cbcm. frisch hergestellter Fehling'scher Lösung (auch die Lösung von weinsaurem Natronkali und Natronlauge wird am besten unmittelbar vor dem Gebrauch hergestellt), 80 cbcm. Wasser und 10 cbcm. Harn werden im Kolben zum Sieden erhitzt. Dabei wird die Mischung oft ziemlich stark gelbroth und getrübt durch ausgeschiedenes Kupferoxydul. Alsdann säuert man mit Salzsäure, nicht zu stark, an, verdünnt mit ausgekochtem Wasser auf das ursprüngliche Volumen oder etwas mehr, giesst die Lösung aus dem Kolben in ein Becherglas, spült nach und fällt sofort mit einer verdünnten, etwa 2procentigen, Lösung von Rhodankalium oder besser Rhodanammonium in möglichst geringem Ueberschuss. Der entstandene weisse Niederschlag von Kupferrhodanür wird nach 24 Stunden unter leichtem Erwärmen oder auch in der Kälte abfiltrirt, gewaschen, bei 115° getrocknet, gewogen. 607 Theile entsprechen 180 Theilen wasserfreiem Traubenzucker. Auf die sofortige Fällung der erhaltenen salzsauren Lösung ist Werth zu legen, zögert man damit, so erleidet man Verlust durch Oxydation von Kupferoxydul. Die Filtration des Kupferrhodanür bietet Schwierigkeiten, es bedarf sehr guten Papiers und grosser Vorsicht beim Auswaschen, um ein klares Waschwasser zu erhalten. Eine kleine Un-

[1]) Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1886, No. 10.

[2]) Virchow's Archiv, Bd. 105, S. 63.

bequemlichkeit bilden die manchmal am Boden der Flüssigkeit ausgeschiedenen Krystalle von Monokaliumtartrat. Dieselben schliessen etwas Kupferrhodanür ein, dürfen daher nicht vernachlässigt werden; man bringt sie durch Erwärmen mit Wasser unter Zusatz von Salzsäure in Lösung. Falls die Krystalle, was auch mitunter vorkommt, an der Oberfläche schwimmen, bringt man sie zum Untersinken, damit sie nicht auf das Filter gerathen, auf dem sie kaum noch in Lösung zu bringen sind. Diese Ausscheidung von Weinstein erfolgt mitunter selbst dann, wenn man zur Herstellung der Fehling'schen Lösung nur weinsaures Natron oder Weinsäure in Natron gelöst angewendet hat (etwa 9 g. Weinsäure, 22 cbcm. Natronlauge von 1,34 spec. Gew. aufgefüllt auf 50 cbcm.). Dagegen habe ich sie nicht auftreten sehen bei Anwendung von Rhodanammonium statt Rhodankalium, auch dann nicht, wenn man weinsaures Natronkali zur Fehling'schen Lösung nimmt, Rhodammon dürfte daher vorzuziehen sein.

Von der Reinheit des Kupferrhodanürs kann man sich in folgender Weise überzeugen: Dasselbe wird geglüht, mit Wasser ausgekocht, filtrirt, in den Auszug Schwefelwasserstoff eingeleitet zur Entfernung einer geringen Quantität Kupfer (schwefelsaures Kupfer beim Verbrennen des Rhodanür gebildet), wiederholt filtrirt, bis das Filtrat wasserhell ist. Dasselbe wird in einer gewogenen Platinschale eingekocht, der Rückstand zum gelinden Glühen erhitzt: es bleibt entweder ein unwägbarer Rückstand oder etwa 1 Milligr.

Sehr empfehlenswerth ist stets die Ausführung eines genau ebenso angestellten Controllversuches ohne Harn resp. mit noch 10 cbcm. Wasser statt Harn.

Dieses Verfahren gibt nun ganz überraschend hohe Werthe, es kommt selbst vor, dass die angegebenen 20 cbcm. Fehling'scher Lösung auf 10 cbcm. Harn nur knapp ausreichen; die folgende kleine Tabelle enthält die gefundenen Werthe.

Angewendet 10 cbcm.	Specifisches Gewicht.	Kupferrhodanür erhalten.	Scheinbarer Zuckergehalt in Procenten.
Salzsaures Filtrat I	—	0,3071	0,912
» » II	—	0,334	0,981
» » III	—	0,334	0,981
Harn entsprechend dem Filtrat III	1020	0,2922	0,866
Harn	1024	0,3002	0,895
»	1015	0,1256	0,372
»	1022	0,3314	0,983
»	1018	0,3096	0,918
»	1017	0,1672	0,496

Die Aufklärung dieser auffallenden Ergebnisse muss weiteren Versuchen vorbehalten bleiben, jedenfalls aber folgt aus den obigen Bestimmungen, dass das Reductionsvermögen des Harns nach 18stündigem Kochen mit 10% Salzsäure (von 1,12 spec. Gew.) nicht vermindert ist. Da nun in den salzsauren Filtraten die Harnsäure, welche für das Reductionsvermögen des normalen Harns sehr wesentlich in Betracht kommt, eliminirt ist oder wenigstens zum grossen Theil eliminirt ist, so lässt sich mit grosser Wahrscheinlichkeit sagen, dass das Reductionsvermögen des Harns bei anhaltendem Kochen mit Säuren zunimmt.

Aus dem Verhalten des Harns lässt sich also keinerlei Schluss ziehen über die etwaige Betheiligung der reducirenden Kohlehydrate an der Bildung der Huminsubstanzen. Das wäre eben nur möglich bei Abnahme des Reductionsvermögens. Aber auch der umgekehrte Schluss, welcher darauf hinauskommen würde, dass im Harn keine reducirenden Kohlehydrate enthalten sind, ist nicht zulässig. Man könnte vielleicht geneigt sein, folgendermassen zu schliessen: Wenn man die Lösung reducirender Kohlehydrate mit 10% Salzsäure versetzt, auf etwa $^4/_{10}$ des Volumens eindampft und nun noch 16—18 Stunden am Rückflusskühler kocht, so werden die Kohlehydrate ohne Zweifel unter Bildung von Huminsubstanzen zersetzt und das Reductionsvermögen der Flüssigkeit hört auf oder nimmt bis auf ein Minimum ab. Da der Harn dieser Behandlung unterworfen ist und sein Reductionsvermögen nicht abgenommen hat, so enthält der Harn keine reducirenden Kohlehydrate. Dieser Schluss ist nicht zwingend, denn es ist sehr wohl denkbar, dass das Reductionsvermögen anderer Harnbestandtheile bei diesem Verfahren zunimmt und auf diesem Wege das durch Zerstörung der Kohlehydrate entstandene Deficit des Reductionsvermögens compensirt und selbst übercompensirt wird.

Aus dem Reductionsvermögen des Harns vor und nach dem Kochen mit Salzsäure lässt sich also überhaupt nichts schliessen über die Betheiligung der Kohlehydrate an der

Bildung der stickstoffhaltigen Huminsubstanzen; aus diesem Grunde habe ich auch die Reductionsverhältnisse an dieser Stelle nicht weiter verfolgt.

Bereits vor dem Erscheinen der Abhandlung von Treupel habe ich mich bemüht, die Frage, wie es komme, dass der längere Zeit gefaulte Harn doch beim Kochen mit Salzsäure Huminsubstanz liefert, aufzuklären, z. Th. veranlasst durch den zufälligen Umstand, dass mir einige Liter eines Harns zur Verfügung standen, welcher bereits $1^1/_2$ Jahre alt war. Ich habe mir dabei natürlich nicht verhehlen können, dass die Frage nach der Muttersubstanz der Huminsubstanzen an sich von untergeordneter Bedeutung ist und ihre Aufklärung schwerlich ein genügendes Aequivalent für einen grösseren Aufwand von Zeit und Mühe bildet, dagegen schien es mir lohnend, bei dieser Gelegenheit die neueren Methoden der Untersuchung auf Kohlehydrate einer Nachprüfung zu unterziehen.

Der der Arbeit zu Grunde liegende Plan war folgender: Durch eine Anzahl quantitativer Bestimmungen sollte ermittelt werden, ob sich für normalen Harn eine in gewissen Grenzen schwankende Relation zwischen dem Gehalt an Kohlehydraten und der Quantität der aus dem Harn darstellbaren Huminsubstanz feststellen liesse. Dasselbe sollte an gefaultem Harn ausgeführt werden. Wenn die Kohlehydrate die einzige Quelle der Huminsubstanzen sind, so muss diese Verhältnisszahl in dem gefaulten Harn dieselbe sein. Erwies sich dagegen die Verhältnisszahl für Huminsubstanz : Kohlehydrat in dem gefaulten Harn vergrössert, so war damit erwiesen, dass die Huminsubstanz nur zu einem Theil aus den Kohlehydraten abstammen konnte.

I. Der Nachweis und die Bestimmung der Kohlehydrate im Harn.

Es stehen uns für diesen Zweck bekanntlich zwei Methoden zu Gebote, von denen wir die eine, die Bildung von Benzoylestern, Baumann ganz verdanken, die andere ursprünglich

von Molisch herrührt, jedoch im Baumann'schen Laboratorium wesentliche Verbesserungen erfahren hat und als quantitative Methode ausgebildet ist.

Die dritte Methode, die man noch anführen könnte, die Bildung von Osazonen, scheint für normalen Harn wenig anwendbar zu sein.

Die Angaben der verschiedenen Autoren über das Verhalten des normalen Harns zu salzsaurem Phenylhydrazin + Natriumacetat und ebenso die Ansichten über die Verwerthbarkeit dieser Reaction zum Nachweis kleiner Quantitäten von Zucker im Harn gehen, wie Roos[1]) ausgeführt hat, sehr weit auseinander. Augenscheinlich kommt sehr viel auf die speciellen Einzelheiten des Verfahrens und namentlich auch auf die Quantität des angewendeten Phenylhydrazins an. Die Differenzen der Autoren möchten hierdurch wohl ihre Erklärung finden.

Im Allgemeinen kann ich mich den Angaben von Roos anschliessen. Wenn man 10 cbcm. Harn mit 0,5 g. salzsaurem Phenylhydrazin und 1 g. Natriumacetat eine volle Stunde im Reagensglas in einem kochenden Wasserbad (in dieses versenkt) erhitzt und dann mit demselben erkalten lässt, so findet man wohl stets in dem Niederschlag bei der mikroskopischen Untersuchung am nächsten Tage unzweifelhafte Nadelbüschel, oft noch viel grössere, als Roos sie bei 300maliger Vergrösserung abbildet, dabei aber auch stets ölige Tropfen. Die Nadelbüschel sind oft ganz ausserordentlich zart und weich; wenn man das Deckglas nur ein wenig andrückt, so kann es vorkommen, dass die Nadeln zerdrückt und von den sich ausbreitenden ölförmigen Beimischungen ganz überfluthet werden, so dass man dann durchaus nichts mehr von krystallinischen Gebilden sieht.

Etwas anders verhalten sich grosse Quantitäten Harn auf einmal erhitzt. Ich habe kürzlich im Verein mit Herrn Sanitätsrath Dr. Jastrowitz[2]) in einem pathologischen Harn

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. XV, S. 529.

[2]) Centralbl. f. d. med. Wissensch., 1892, No. 19 und No. 32.

ein neues Kohlehydrat aufgefunden — entweder an sich neu oder für den Harn neu, wahrscheinlich eine Pentose —, dessen Osazon scharf bei 159° schmilzt. Um zu sehen, ob dasselbe nicht vielleicht in kleinen Mengen auch im normalen Harn vorkomme, wurden grössere Quantitäten Harn mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat behandelt.

Er wurde jedesmal 1 Liter Harn mit 20 g. salzsaurem Phenylhydrazin und 40 g. Natriumacetat 1 bis 1¼ Stunde im strömenden Dampf erhitzt (die Zeitangabe bezieht sich auf den Beginn des Ausströmens des Dampfes, die Bechergläser wurden in den Apparat gesetzt, dann erst dieser angeheizt) und dann mit dem Apparat erkalten gelassen. Die mikroskopische Untersuchung des Niederschlages am nächsten Tage ergab fast nur sehr kleine, aber sehr wohl ausgebildete Rosettenformen neben ganz verschwindend geringen amorphen Beimischungen. Ich will nicht versäumen, hervorzuheben, dass ich mit dieser Angabe nur eine mir mündlich gemachte Mittheilung von Röhmann bestätige. Die Krystallbüschel sind weit widerstandsfähiger, wie die bei den kleinen Proben erhaltenen. Die Farbe des abfiltrirten und über Schwefelsäure getrockneten Niederschlages ist, abweichend von dem Phenylglycosazon, fast braun, der Schmelzpunkt nicht scharf, etwa bei 175—180°. Von einer Verwechslung dieses Niederschlages mit Phenylglucosazon kann, wenn man nur einigermassen auf den äusseren Habitus und die mikroskopische Form achtet, nicht die Rede sein.

Kocht man diesen Niederschlag mit Wasser aus, so löst sich nur ein Theil auf, während ein grosser Theil verharzt. Aus der filtrirten heissen Lösung scheidet sich ein hellgelber mikrokrystallinischer Niederschlag aus, dessen Schmelzpunkt bei 170° liegt, aber gleichfalls nicht ganz scharf ist. Die Quantität der so erhaltenen hellgelben Verbindung ist gering. — Auch die Behandlung der ursprünglichen Verbindung mit Alkohol, Eingiessen in Wasser und Fortkochen des Alkohols führte zu keinen besseren Resultaten, auch hierbei findet umfangreiche Verharzung statt. Ein etwas besseres Resultat gibt die Auflösung in Eisessig und Eingiessen in Wasser.

In allen Fällen ist die über dem Niederschlag stehende Harnflüssigkeit, wie auch Roos hervorhebt, lehmig trüb und geht in dieser Beschaffenheit auch durch das Filter hindurch (wenigstens ist dieses bei den Versuchen im Grossen constant der Fall, während ich bei den nach Roos angestellten Proben mit 10 cbcm. Harn und einem grösseren relativen Verhältniss von Phenylhydrazin zum Harn einige Male auch fast ganz klare Filtrate erhielt), so dass an eine quantitative Verwerthung der Reaction mit salzsaurem Phenylhydrazin + Natriumacetat — abgesehen von allen anderen sonst noch möglichen Einwänden — nicht zu denken ist.

Was die Brauchbarkeit der Reaction mit Phenylhydrazin + Natriumacetat zum Nachweis kleiner Quantitäten von Dextrose betrifft, so halte ich diese Frage noch nicht für abgeschlossen. Man könnte wohl geneigt sein, nach den Resultaten von Roos diese Frage im Wesentlichen als im negativen Sinne beantwortet anzusehen, indessen weicht die Versuchsanordnung von Roos in ihren Einzelheiten wesentlich von der von v. Jaksch gegebenen Vorschrift ab, so dass dadurch die positiven Angaben einer Reihe von Autoren nicht entwerthet werden. Es wäre immerhin wohl möglich, dass sich bei Einhaltung der von Jaksch angegebenen Versuchsbedingungen oder einer Modification dieser das Verhalten schwach zuckerhaltiger Harne doch als charakteristisch herausstellt. Eine neue Complication würde dabei freilich das oben erwähnte abnorme Kohlehydrat bilden. Für die vorliegende Frage war, wie erörtert, die Phenylhydrazinprobe nicht anwendbar.

1. Die Feststellung des Kohlehydratgehaltes durch Benzoylirung.

Zur Darstellung der Benzoylverbindungen der Kohlehydrate wird der Harn nach der von Wedenski[1]) gegebenen Vorschrift zuerst mit wenig Natron versetzt, von den ausgeschiedenen Phosphaten abfiltrirt, dann werden auf je 100 cbcm.

---

[1]) Diese Zeitschr., Cd. XIII, S. 122.

Harn 3—5 cbcm. Benzoylchlorid und 25—40 cbcm. 10- bis 12procentiger Natronlauge hinzugefügt; das Gemisch wird stark durchgeschüttelt, bis der Geruch nach Benzoylchlorid verschwunden ist; während des Schüttelns wird das Gefäss durch Wasser gekühlt.

In einer späteren gleichfalls aus dem Laboratorium von Baumann hervorgegangenen Arbeit verwendet Roos auf je 100 cbcm. Harn 100 cbcm. Natronlauge der angegebenen Concentration und 10 cbcm. Benzoylchlorid. Roos nimmt also nicht allein mehr Benzoylchlorid auf dasselbe Volumen Harn, sondern auch das Verhältniss zwischen Benzoylchlorid und Natronlauge ist bei ihm, wie man sieht, ein etwas anderes. Eine Begründung dieser Abweichung findet sich, soviel ich sehen kann, nicht bei Roos. Treupel acceptirt die Zahlen von Roos und gibt als Vorschrift für die Probe im Reagensglas 10 cbcm. Harn, 10 cbcm. Natronlauge (10—12procentig) und 1 cbcm. Benzoylchlorid.

Ich habe mich in den meisten Fällen an die Angaben von Wedenski gehalten und zwar an die höheren Zahlen — 40 cbcm. Natronlauge und 5 cbcm. Benzoylchlorid auf 100 cbcm. Harn —, doch kam in einigen Fällen auch die doppelte Quantität Benzoylchlorid zur Anwendung. Das Verhältniss der Natronlauge zum Benzoylchlorid zu steigern, fand ich keine Veranlassung, da die Mischungen nach Ablauf der Reaction stark alkalisch reagirten.

Man stösst nun, wenn man die Quantität der aus dem Harn darstellbaren Benzoylverbindungen bestimmen will, auf eine kleine Schwierigkeit. Nach der Angabe von Wedenski soll der Harn zuerst mit wenig Natronlauge versetzt und dann filtrirt werden, um die Phosphate zu entfernen. Der Harn geht dabei in der Regel Anfangs trüb durch's Filter und muss mehrmals zurückgegossen werden, es macht sogar einige Schwierigkeiten, ein ganz klares Filtrat zu erhalten. Erleichtert wird dieses dadurch, dass man den alkalisirten Harn vor dem Filtriren einige Stunden stehen lässt. Das Stehenlassen empfiehlt sich auch schon aus dem Grunde, weil sonst sehr leicht noch nachträglich Ammoniummagnesiumphosphat ausfällt und sich dem Niederschlag beimischt. Will man nun die Quantität der Benzoylverbindungen aus einem bestimmten Volumen Harn ermitteln, so muss man warten, bis der alkalisirte Harn völlig filtrirt ist, und dann natürlich noch genügend nachwaschen. Da

die Filtration langsam erfolgt, so ist das vorgängige Alkalisiren eine lästige Complication und es wird ausserdem durch das Nachwaschen der Harn unnöthig weiter verdünnt.

Um diese Complication zu vermeiden, bin ich folgendermassen vorgegangen: Wenn beispielsweise die Benzoylverbindungen aus 500 cbcm. bestimmt werden sollten, wurden 600 cbcm. desselben mit Natronlauge stark alkalisirt, dann durch Wasserzusatz auf 660 cbcm. gebracht, durch ein trocknes Filter filtrirt und vom Filtrat 550 cbcm. abgemessen, entsprechend 500 Harn. Es ist sogar zweckmässig, noch mehr Harn zu nehmen, also etwa 700 cbcm. auf 770 cbcm. gebracht, da die Filtration sich allmälig sehr verlangsamt. Dieser Handgriff ist kaum der Erwähnung werth, ich erwähne ihn auch nur, um mich keiner Unterlassung schuldig zu machen. Wedenski spricht sich über diesen Punkt nicht aus, ebensowenig Roos und Treupel.

Angaben über die Art der Aufsammlung des Niederschlages zum Zweck der Gewichtsbestimmung finden sich bei Wedenski und Roos nicht. Handelt es sich um eine irgend erhebliche Quantität Harn, so macht die Aufsammlung in der That nicht unerhebliche Schwierigkeiten. Da die Filtration sehr langsam erfolgt, so kann man nicht allzu kleine Filter nehmen, die Trocknung irgend grösserer Filter über Schwefelsäure ist aber bekanntlich eine äusserst missliche Sache; ebenso erweist es sich als ganz unausführbar, die Benzoylverbindungen nach dem Trocknen vom Filter abzulösen und für sich zu wägen. Der getrocknete Niederschlag hat zwar nicht direct klebrige Beschaffenheit, aber er stäubt einerseits sehr stark, weil er sehr leicht ist, und er haftet andererseits sehr fest am Filter, so dass die Ablösung von Papierfasern nicht zu vermeiden ist. Eine Ablösung des Niederschlages vom Filter ohne erheblichen Verlust einerseits und Beimischung von Papierfasern andererseits ist ganz unausführbar.

Folgendes Verfahren hat sich mir als zweckmässig erwiesen: Die wenigstens eine halbe Stunde lang in einem Kolben mit Glasstöpsel oder einer Glasstöpselflasche geschüttelte Mischung bleibt bis zum nächsten Tage an einem kühlen Ort stehen und wird dann mittelst der Saugpumpe durch ein Filter von gehärtetem Papier (von Schleicher und Schüll) filtrirt; der Niederschlag, vollständig auf's Filter gebracht,

wird so lange gewaschen, bis das Waschwasser keine oder nur eine ganz minimale Salzsäurereaction gibt. Die Filtration erfolgt langsam. Alsdann breitet man das Filter auf einer Papierunterlage oder Thonplatte aus und lässt den Niederschlag ein wenig trocknen. Der noch etwas feuchte Niederschlag wird vorsichtig abgenommen, in ein grosses Uhrglas gebracht und zum Trocknen über Schwefelsäure gestellt. Um die anhaftenden Reste der Benzoylverbindungen zur Wägung zu bringen, zerschneidet man das Filter über einem grossen Becherglas, welches der Vorsicht halber noch auf ein Blatt glattes Papier gestellt wird, giesst auf die Schnitzel so viel Alkohol absolut., dass sie mehr als bedeckt sind, deckt das Becherglas mit einem grossen Uhrglas zu und erhitzt es auf dem Wasserbad so lange, bis die Schnitzel ganz rein erscheinen; man giesst nun den alkoholischen Auszug unter Zurücklassung der Schnitzel möglichst vollständig auf ein Filter, behandelt die Papierschnitzel noch einmal mit Alkohol und bringt sie schliesslich auf's Filter, wäscht mit Alkohol nach. Die gesammelten alkoholischen Auszüge werden entweder direct in einer gewogenen Platinschale eingedampft, oder nachdem sie vorher in einer grösseren Schale concentrirt sind, der Rückstand kurze Zeit (1 Stunde) bei 100 bis 110° getrocknet und gewogen. Die so erhaltene Quantität wird zur Hauptmenge hinzuaddirt. Das Trocknen der Hauptmenge des Niederschlages über Schwefelsäure dauert bei Quantitäten von mehr als 1 g. sehr lange; anscheinend trockne Niederschläge verlieren oft noch erstaunlich viel an Gewicht. Aus diesem Grunde ist auch für häufige Erneuerung der Schwefelsäure des Exsiccators Sorge zu tragen.

Die von mir untersuchten Harne waren ausschliesslich Tagesharne, die 24stündige Menge nicht bekannt; jede untersuchte Harnprobe ist ein Theil einer grösseren Quantität des von einem Indviduum entleerten Harns, einzelne Harnentleerungen sind nicht untersucht. Die Harne stammten von verschiedenen gesunden Individuen. Absichtlich wurden sehr verschiedene Volumina Harn angewendet. Nachfolgende Tabelle enthält die gefundenen Werthe.

Versuchs-Nummer.	Angewandte Harnmenge in cbcm.	Specifisches Gewicht.	Erhaltene Benzoyl-verbindung in g.	Auf 100 cbcm. berechnet.
1	300 [1]	1024	1,087	0,366
2	300	1022	0,692	0,231
3	a) 200	1024	0,313	0,157 } Mittel 0,140
	b) 200		0,244	0,122
4	300	1020	0,656	0,219
5	200	1017	0,317	0,159
6	200	1019	0,388	0,194
7	800	1020	0,806	0,101
8	400	?	1,068	0,265
9	a) 200	1022	0,588	0,294 } Mittel 0,287
	b) 200		0,560	0,280
10	1000	1024	2,279	0,228
11	1000	1017	1,651	0,165
12	a) 200	1021	0,233	0,117 } Mittel 0,151
	b) 200		0,295	0,148
	c) 700		1,322	0,189
13	1000	1018	1,958	0,196

Was zunächst die Doppelbestimmungen betrifft, so ist die Uebereinstimmung derselben, trotzdem die Bedingungen so viel wie möglich gleich gehalten werden, nur eine sehr mässige zu nennen. Man wird dementsprechend auch nur auf grosse Differenzen Gewicht legen können. Man könnte geneigt sein, die Ursache der Differenz in dem Auswaschen des Niederschlages zu suchen. Wedenski hat schon angegeben, dass beim Auswaschen schwach saure Reaction eintritt, was Roos bestätigt. Es geht hierbei, wie vorauszusehen war, etwas Kohlehydrat verloren. Versetzt man ein solches Waschwasser, welches mit Silberlösung keine oder keine merkliche Trübung gibt, mit Silbernitrat, Ammoniak und Natronlauge und erhitzt zum Sieden, so tritt Silberreduction ein. Augenscheinlich aber ist die Zersetzbarkeit des Niederschlages durch Wasser

[1] Die Zahlen entsprechen den wirklich in der Mischung vorhandenen Quantitäten Harn; vergl. die früheren Erörterungen über diesen Punkt.

nicht gross genug, um die ungenügende Uebereinstimmung der Doppelbestimmungen zu erklären. Es scheint vielmehr, dass die Bedingungen für die Ausfällung der Benzoylverbindung in den Doppelbestimmungen doch nicht ganz gleichmässig sind, trotz aller Bemühungen, sie gleichmässig zu machen.

Ueber die Quantität der Benzoylverbindungen aus menschlichem Harn liegt meines Wissens bisher nur eine Angabe von Wedenski vor (l. c., S. 124): «Die Ausbeute an den genannten Benzoylverbindungen betrug bei einer grösseren Zahl von Bestimmungen zwischen 0,138 und 1,309 g. auf 100 cbcm. Harn berechnet.» Bei Wedenski beträgt das Maximum also fast das 10fache des Minimums.

In meinen Versuchen betrug das Minimum für 100 cbcm. Harn von etwas mehr als mittlerer Concentration 0,122 g., das Maximum 0,366 g., die Schwankung also das Dreifache. Das Minimum stimmt ungefähr mit dem von Wedenski gefundenen überein, dagegen betrug das Maximum noch nicht $^1/_3$ des von Wedenski ermittelten. Worin diese Differenz begründet ist, lässt sich bei dem Mangel näherer Angaben nicht sagen. Im Ganzen wurden in meinen Versuchen 7400 cbcm. Harn[1]) von etwas mehr als mittlerer Concentration mit Natronlauge + Benzoylchlorid behandelt und daraus 15,113 g. Benzoylverbindung erhalten. Das ergiebt im Mittel 2,042 g. im Liter.

Was die Natur des durch Natronlauge + Benzoylchlorid aus Harn erhaltenen Niederschlages betrifft, so liegt kein Grund vor, an der Richtigkeit der Anschauung von Baumann und Wedenski, dass er der Hauptsache nach aus den Benzoylverbindungen von Kohlehydraten besteht, zu zweifeln. Wie Roos und Treupel angegeben haben, kann man sich von der reichlichen Anwesenheit von Kohlehydraten in demselben überzeugen, indem man eine kleine Probe des Niederschlages in Schwefelsäure löst und mit α-Naphtollösung und

---

[1]) Es sind ausserdem noch mehrere Fällungen aus je 1 Liter Harn gemacht, das Gewicht des Niederschlages jedoch nicht festgestellt.

Wasser versetzt: man erhält so eine intensive Furfurolreaction[1]).

Auch die Analysen von Wedenski sprechen für diese Anschauung. Bei der grossen Reactionsfähigkeit des Gemisches von Benzoylchlorid + Natronlauge wäre es aber durchaus nicht auffallend, wenn der Benzoylniederschlag aus Harn ausser den Kohlehydraten noch andere Verbindungen enthielte. Hierauf deutet auch der N-Gehalt des Niederschlages hin.

Wedenski gibt an, dass der Niederschlag Spuren von Stickstoff enthalte, ein Versuch, denselben quantitativ zu bestimmen, aber wegen der allzu geringen Menge desselben aufgegeben sei. Bei einigen Versuchen, die ich ausführte, zeigte sich derselbe zwar gering, aber nach Kjeldahl's Verfahren recht wohl bestimmbar. Zum Auffangen des Ammoniaks dienten 10 cbcm. einer Oxalsäurelösung, welche 15,0975 g. Oxalsäure im Liter enthielt. Zurücktitrirt wurde mit Barytwasser.

1. 0,3172 g. von Probe 6 (10 cbcm. Säure = 13,25 cbcm. Baryt). Zum Zurücktitriren gebraucht 11,55 cbcm. Baryt. N-Gehalt = 1,38 %.
2. 0,5514 g. von Probe 12 (10 cbcm. Säure = 13,25 cbcm. Baryt). Zum Zurücktitriren gebraucht 10,2 cbcm. Baryt. N-Gehalt = 1,39 %.
3. 0,5048 g. von Probe 11 (10 cbcm. Säure = 13,35 cbcm. Baryt). Gebraucht 10,25 cbcm. Baryt. N-Gehalt = 1,54 %.
4. Reste von Probe 1 und 5 in Eisessig gelöst, durch Wasser gefällt, 0,5638 g. (10 cbcm. Säure = 13,25 cbcm. Baryt). Gebraucht 10,50 cbcm. Baryt. N-Gehalt = 1,39 %.
5. Benzoylniederschlag in Alkohol gelöst, nach dem Erkalten filtrirt, durch Wasser und etwas Salzsäure gefällt, gewaschen etc., 0,512 g. (10 cbcm. Säure = 13,35 cbcm. Baryt). Gebraucht 10,8 cbcm. Baryt. N-Gehalt = 1,28 %.

Im Mittel würde also der N-Gehalt 1,4 % betragen. — Man könnte geneigt sein, diesen N-Gehalt auf Verunreinigung der Niederschläge durch Harnbestandtheile zu beziehen. Abgesehen davon, dass die erwähnte Constanz des N-Gehaltes dieser Annahme widerspricht, wird sie auch dadurch sehr unwahrscheinlich, dass die untersuchten Präparate sich frei von Chloriden erwiesen (Proben derselben wurden mit Wasser

---

[1]) Schon früher hat v. Udránszky mit dem Niederschlag die Schiff'sche Furfurolreaction erhalten; diese Zeitschr., Bd. XV, S. 379.

ausgezogen, der Auszug mit Silbernitrat geprüft). Bei den Proben 4 und 5 ist diese Möglichkeit der Erklärung nach der Art der Darstellung der Präparate von vorneherein ausgeschlossen. Man muss also wohl annehmen, dass dieser N-Gehalt dem Niederschlag in der That zukommt.

Nach den Angaben von Hugo Schröter[1]) über Aether der Eiweisskörper liegt es sehr nahe, an eine Beimischung von Benzoylestern irgend welcher Eiweisskörper zu denken, vielleicht von Nucleoalbuminen, die man ja jetzt geneigt ist, als normalen Harnbestandtheil zu betrachten. Da der N-Gehalt der Benzoylester der Albumosen nach Schröter 10—11% beträgt, so würden den Kohlehydratestern etwa 14% dieser Eiweissester beigemischt sein. Wenn diese Annahme richtig ist, so muss der Benzoylniederschlag auch schwefelhaltig sein. Das ist in der That der Fall. Der Schwefelgehalt lässt sich sowohl durch Erhitzen mit Natrium oder Kalium, als auch durch Schmelzen mit $KNO_3 + Na_2CO_3$, sowie mit $KClO_3 + Na_2CO_3$ (die Gemische sind explosiv, die Schmelzung daher kaum ohne Verluste ausführbar) nachweisen.

Jedenfalls aber liegt kein Grund vor, daran zu zweifeln, dass der bei Weitem überwiegende Theil des Benzoylniederschlages aus Benzoylestern der Kohlehydrate besteht. Dagegen kann ich die allgemein acceptirte Anschauung, dass diese Kohlehydrate Traubenzucker und thierisches Gummi seien, nicht als genügend begründet anerkennen.

Für die Gegenwart von Benzoylestern des Traubenzuckers führt Wedenski Folgendes an: 1. Der durch Natronlauge nicht verseifbare Antheil des Niederschlages löst sich in Alkohol auf. Dieser Antheil reducirt nach Zusatz von Natronlauge Fehling'sche Lösung. 2. Der durch Natronlauge nicht verseifbare Antheil wird beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure allmälig gespalten. Dabei geht ein Kohlehydrat in Lösung, welches, nach Entfernung der Benzoësäure, «die gewöhnlichen Reactionen des Traubenzuckers gegen alkalische Kupfer- oder Wismuthlösung, wie gegen Alkalien beim Kochen zeigte».

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XXII, S. 1950.

Dieses Verhalten ist natürlich nicht beweisend für präformirten Zucker, da ja die Möglichkeit sehr nahe liegt, dass der reducirende Körper erst durch die Einwirkung der Schwefelsäure auf ein nicht reducirendes Kohlehydrat entstanden ist. Es bleibt also nur die reducirende Wirkung des nicht verseifbaren Antheils (in alkoholischer Lösung) für Fehling'sche Lösung, was offenbar für den Nachweis von Traubenzucker nicht ausreicht. Das zweite Kohlehydrat ist nach Wedenski ein dextrinartiger Körper, welcher mit dem thierischen Gummi von Landwehr wahrscheinlich identisch ist. Das Vorkommen des thierischen Gummis im Harn steht aber noch so wenig fest, dass dieser Theil seiner Angaben überhaupt nicht viel besagt.

Während nun aber Wedenski sich immerhin mit einer gewissen Reserve über die Zusammensetzung des Benzoylniederschlages ausspricht, das Dextrin nur mit Wahrscheinlichkeit für identisch mit dem thierischen Gummi erklärt, bei dem Traubenzucker auch an einer Stelle in Parenthese «Maltose» hinzusetzt, legen sich die späteren Autoren, die auf diesen Gegenstand zu sprechen kommen, kaum noch irgend welche Zurückhaltung auf, sondern sprechen von der Zusammensetzung des Niederschlages wie von einer festgestellten Thatsache, ohne dass sie selbst irgendwie neues Beobachtungsmaterial beibringen. Dem gegenüber scheint es mir nothwendig, die Unsicherheit dieser Angaben in Erinnerung zu bringen.

So beruht es auf einem Irrthum, wenn Luther[1]) sagt: «Wedenski konnte aus dem Gemisch (sc. der Benzoylester) zwei Kohlehydrate gewinnen, das eine ist vorhin schon erwähnt — seinen Eigenschaften und der Analyse nach ist es identisch mit dem thierischen Gummi Landwehr's —, das zweite zeigte für Traubenzucker charakteristische Reactionen und seine Analyse lieferte dem Traubenzucker sehr nahestehende Werthe». Für diese Angaben findet sich in der Litteratur nicht der geringste Anhalt.

[1]) E. Luther, «Methoden der Untersuchung des Harns auf Zucker etc.», Berlin 1890. S. 33.

Ich habe Anfangs natürlich immer geglaubt, dass diese Angaben sich in einer von mir übersehenen Publication Wedenski's fänden, allein eine solche existirt nicht, die einzig vorhandene, oft citirte enthält durchaus nichts, was der Behauptung Luther's zur Unterlage dienen könnte. Luther hat augenscheinlich in Folge eines, allerdings schwer verständlichen, Irrthums die in der Abhandlung von Wedenski angeführten Analysen der Benzoylverbindungen von Dextrin («des Handels», wie Wedenski ausdrücklich hervorhebt) und des Traubenzuckers für Analysen der aus dem Harn erhaltenen Kohlehydrate gehalten!

Auch die Angabe von Roos[1]): «Genauere Untersuchungen über die Art dieser Benzoylverbindungen stellte Wedenski an und fand, dass dieselben ein Gemenge von zwei Kohlehydraten darstellen, von denen das eine nach seiner Isolirung sich allen Reactionen gegenüber wie Traubenzucker verhält, das andere mit grösster Wahrscheinlichkeit mit dem thierischen Gummi Landwehr's identisch ist» entspricht dem Thatbestand durchaus nicht. Meiner Ansicht nach handelt es sich bei den Angaben Wedenski's über die Natur der Kohlehydrate nicht um «genauere Untersuchungen», sondern um das Resultat vorläufiger Versuche und von einer «Isolirung» des Traubenzuckers und «allen Reactionen» kann nicht ernstlich die Rede sein. Von «allen» Reactionen fehlen nur der Nachweis der Gährfähigkeit, der Rechtsdrehung und die Darstellung des Osazons, also alles bis auf die Reductionserscheinungen.

Ebenso wenig zutreffend ist die Angabe von Treupel[2]), dass Wedenski gezeigt habe, «dass der Zuckergehalt des Harns nur zum Theil aus Traubenzucker, wahrscheinlich zum grösseren Theil aus einer dextrinartigen Substanz, welche mit dem thierischen Gummi identisch ist, besteht».

Von einer einigermassen befriedigenden Kenntniss des Benzoylniederschlages aus Harn sind wir also noch weit ent-

[1]) L. c., S. 48.
[2]) Diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 513.

fernt. Aus naheliegenden Gründen habe ich selbst mich nicht eingehender mit dem Benzoylniederschlag beschäftigt, eine eingehendere Untersuchung ist wohl noch aus dem Baumann'schen Laboratorium zu erwarten, dagegen habe ich es nicht vermeiden können, mich so weit mit dem Niederschlag zu beschäftigen, als es nöthig war, um Merkmale zur Identificirung zu gewinnen.

In dieser Beziehung habe ich Folgendes zu bemerken:

1. Die Farbe des Benzoylniederschlages ist etwas wechselnd, mitunter ist er fast rein weiss mit einem leichten Stich in's Gelbliche, meistens gelblich-weiss. Beim Reiben in der Reibschale wird er in hohem Grade electrisch, so dass er sich aus der Reibschale nur zum kleinsten Theil ausschütten lässt.

2. Bezüglich des Schmelzpunktes gibt Wedenski an: Die über Schwefelsäure getrocknete Substanz beginnt bei 40° zu erweichen, schmilzt aber erst über 60°, die Substanz hat also, wie aus dieser Angabe hervorgeht, keinen scharfen Schmelzpunkt. Ich fand etwas höhere Temperaturen erforderlich. Der nicht weiter behandelte Niederschlag zeigte im Allgemeinen Erweichung bei 60°, Schmelzung bei 76 bis 78°. Der durch Essigsäure gereinigte Niederschlag (siehe weiter unten) Erweichung bei 60°, Schmelzung bei 69°, der durch Alkohol gereinigte Erweichung bei 55°, Schmelzung bei 65°. Die in der Platinschale einmal geschmolzene und dann glasig erstarrte Substanz schmolz bei 73°.

3. Der Niederschlag löst sich leicht und bis auf einen geringen Rückstand in heissem Alkohol, sowohl 90procentigem, wie absolutem. Die heiss filtrirte Lösung trübt sich beim Erkalten etwas und scheidet allmälig einen pulverigen Niederschlag in sehr geringer Menge ab, der bei 350facher Vergrösserung amorph erscheint und nach dem Abfiltriren und Auswaschen eine positive Reaction mit α-Naphtol + Schwefelsäure gibt. Beim Eingiessen der von dem Niederschlag abfiltrirten alkoholischen Lösung in Wasser entsteht eine milchig trübe Flüssigkeit, ein Niederschlag scheidet sich nicht ab.

Dieses geschieht aber sofort in grossen Flocken, wenn man zu der milchigen Flüssigkeit einige Tropfen Salzsäure hinzusetzt. Der Niederschlag lässt sich gut abfiltriren und auswaschen, erscheint mikroskopisch völlig amorph und löst sich leicht in Alkohol beim Erwärmen. Diese Lösung bleibt beim Erkalten völlig klar (im Gegensatz zu der alkoholischen Lösung des ursprünglichen Niederschlages).

Die Ausscheidung der Verbindung aus der alkoholischen Lösung durch Wasser + Salzsäure ist so gut wie vollständig. Dies geht aus Folgendem hervor: 1. Das wässerige Filtrat ist wasserhell und farblos. $^1/_2$ cbcm. desselben gibt mit α-Naphtol + Schwefelsäure keine Reaction oder nur eine zweifelhafte Andeutung von Rothfärbung. 2. Eine dem Gewicht nach nicht bestimmte Quantität des Benzoylniederschlages wurde in Alkohol gelöst, die erkaltete alkoholische Lösung filtrirt und durch Wasser + Salzsäure gefällt, abfiltrirt, gewaschen etc. Nach vollständigem Trocknen betrug das Gewicht des Ausgefällten 1,594 g. Filtrat + Waschwasser wurde zur Trockne gedampft, das Gewicht des Rückstandes betrug 0,0264 gr., davon 0,0224 organisch, 0,0040 anorganisch (grösstentheils Calciumphosphat).

4. Aether lässt einen beträchtlichen Antheil des Niederschlages ungelöst, man kann denselben auf diesem Wege leicht in zwei Antheile zerlegen.

5. Der Niederschlag löst sich leicht in Eisessig und scheidet sich beim Eingiessen dieser Lösung in Wasser wieder aus, jedoch tritt mitunter nicht völlige Klärung ein. Der abfiltrirte und mit Wasser gewaschene Niederschlag verhält sich gegen Alkohol wie der ursprüngliche Niederschlag.

6. Wie bereits Treupel angegeben hat, gibt der Niederschlag eine vortreffliche Reaction mit Schwefelsäure + α-Naphtol.

Andere direct anzustellende Reactionen, welche auf die Kohlehydrat-Natur des Niederschlages hindeuten, ausser dieser Reaction und der Schiff'schen Furfurolreaction, sind meines Wissens nicht bekannt. Ich habe daher einige Versuche hierüber angestellt.

a) Die alkoholische Lösung des Niederschlages gibt mit Fehling'scher Lösung für sich oder unter Zusatz von etwas Natron gekocht keine Reaction, während sich mit frisch dargestelltem Benzoyltraubenzucker Reaction erhalten lässt.

b) Vor einiger Zeit habe ich[1]) darauf hingewiesen, dass Mannit und Rohrzucker aus einer ammoniakalischen mit etwas Natronlauge versetzten Silberlösung beim Erhitzen metallisches Silber abscheiden. Dieses thut auch der Benzoylniederschlag, wenn man eine kleine Quantität desselben mit einer ammoniakalisch-alkalischen Silberlösung kocht; in der Regel scheidet sich ein Theil des Silbers als zusammenhängender Spiegel aus. Die ammoniakalische Ag-Lösung bewirkt keine Reduction, auch nicht bei starkem Kochen; man kann daher die Reaction in sehr beweisender Form auch so anstellen, dass man zu dem kochenden Gemisch von Niederschlag und ammoniakalischer Silberlösung etwas Natronlauge hinzufügt, es erfolgt dann sofort Reduction. Andeutungsweise erhält man die Reduction auch mit dem Waschwasser des Benzoylniederschlages zu einer Zeit, in der es keine Chloride mehr enthält, es muss also etwas davon in Lösung gehen oder, was wahrscheinlicher ist und auch von Wedenski mit Wahrscheinlichkeit angenommen wird, eine geringe Zersetzung beim Waschen stattfinden und Kohlehydrat in Lösung gehen. Mit der alkoholischen Lösung lässt sich diese Reaction nicht anstellen, da Alkohol mit ammoniakalisch-alkalischer Silberlösung für sich gleichfalls Silberreduction gibt, was nicht bekannt zu sein scheint.

c) Wenig charakteristisch ist das Verhalten des Benzoylniederschlages zu anderen gebräuchlichen Reagentien auf Zucker. Beim Erhitzen mit Kalihydrat und etwas Wasser tritt mässige Reaction ein unter Orangefärbung. Die erhaltene Lösung reducirt schwach Kupferoxyd, auf Zusatz von Schwefelsäure gibt sie schwachen Caramelgeruch und ausserdem Geruch nach Fettsäuren. Indigcarmin wird beim Kochen mit dem Niederschlag + Natriumcarbonat nur sehr schwach reducirt, ebenso fällt die Böttger'sche Wismuthprobe sehr schwach aus.

2. Die Feststellung des Kohlehydratgehaltes durch die Furfurolreaction.

Als zweite Methode zur Bestimmung der Kohlehydrate im Harn kommt die ursprünglich von Molisch zum Nachweis derselben angegebene Reaction mit α-Naphtol + Schwefel-

[1]) Diese Zeitschr., Bd. IV, S. 133.

säure in Betracht, welche von v. Udránszky, sowie durch verschiedene aus dem Baumann'schen Laboratorium hervorgegangene Arbeiten verbessert und für die quantitative Bestimmung verwerthet ist.

Die Einzelheiten sind bei den verschiedenen Autoren etwas wechselnd, in jedem Falle aber ist die Ermittelung der Menge des Kohlehydrates auf eine Grenzbestimmung basirt, d. h. auf Feststellung des Verdünnungsgrades der zu untersuchenden Flüssigkeit, bei welchem eben noch eine Reaction wahrnehmbar ist.

v. Udránszky[1]) benutzt eine 15procentige alkoholische α-Naphtollösung. Zur Anstellung der Reaction gibt er zu einem Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit zuerst zwei Tropfen der α-Naphtollösung, dann unter Vermeidung der Vermischung $^1/_2$ cbcm. Schwefelsäure. So angestellt ist die Reaction nach ihm bei Anwendung eines Tropfens 0,05-procentiger Traubenzuckerlösung «schon etwas undeutlich». «Nimmt man einen Tropfen einer 0,03procentigen Traubenzuckerlösung, so sind keine charakteristischen Erscheinungen mehr zu bemerken.»

Luther[2]) zieht eine Lösung von α-Naphtol in Chloroform vor. Bezüglich der Anstellung der Reaction weicht er nach gemeinschaftlich mit v. Udránszky angestellten Versuchen insofern ab, als er zu einem Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit zuerst $^1/_2$ cbcm. Wasser hinzusetzt, dann α-Naphtollösung (1 Tropfen), dann 1 cbcm. Schwefelsäure und leise durchschüttelt. Die Erhitzung der Flüssigkeit ist wesentlich für die Ausbildung der Reaction. Ein Tropfen einer 0,02procentigen Trauberzuckerlösung gibt nach Luther die Reaction noch deutlich, eine 0,01procentige zeigt die charakteristischen Erscheinungen noch, aber erst nach längerem Stehen. Die Reaction hat also, wie Luther hervorhebt, gegen die v. Udránszky'sche an Feinheit gewonnen. Streng genommen hat sie nicht nur um das Doppelte oder etwas mehr gewonnen, sondern um das 20fache und mehr, da ja

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. XV, S. 385.

[2]) Luther, Methoden etc., S. 9 ff.

durch den Zusatz von Wasser die Concentration der Traubenzuckerlösung auf ungefähr 0,002 % resp. 0,001 % herabgedrückt wird. Denn es ist bei farblosen Lösungen selbstverständlich gleichgiltig, ob man zu einem Tropfen der 0,02procentigen Lösung $^1/_2$ cbcm. Wasser hinzusetzt oder ob man von vorneherein $^1/_2$ cbcm. einer 0,002procentigen Lösung anwendet; auch eine solche muss die Reaction geben; für farblose Flüssigkeit hat es also keinen Zweck, sich an die Vorschrift zu binden und nur einen Tropfen zur Prüfung zu nehmen, man kann vielmehr direct zu $^1/_2$ cbcm. der zu prüfenden Flüssigkeit einen Tropfen α-Naphtol hinzusetzen. Für den Harn liegt die Sache freilich anders, dieser muss unbedingt verdünnt werden, weil der Harn mit Schwefelsäuren allein störende Farbenerscheinungen hervorruft.

Luther bemerkt ausserdem, dass die von v. Udránszky constatirte Grünfärbung des α-Naphtols mit Schwefelsäure nicht dieser selbst angehört, sondern von einem Gehalt der Schwefelsäure an Salpetersäure oder salpetriger Säure abhängt. Eine geringe, bei Zusatz von α-Naphtollösung zur Schwefelsäure eintretende Grünfärbung schadet nach ihm bei Anstellung der Reaction nicht, dagegen macht eine irgend erhebliche Grünfärbung, welche nicht beim Umschütteln fast momentan einer Gelbfärbung Platz macht, die Schwefelsäure unbrauchbar.

Posner und Epenstein[1]) haben sich nach dem Vorgange von Luther und v. Udránszky der α-Naphtolreaction zum qualitativen Nachweis und zur annähernden quantitativen Bestimmung des Traubenzuckers in diabetischen Harnen bedient. Gegen die Anwendung der Chloroformlösung des α-Naphtols machen sie geltend, dass die grosse Flüchtigkeit des Chloroforms zu einer lästigen Ausscheidung von α-Naphtol an der Ausflussöffnung des Tropfenzählers Veranlassung gibt. Ausserdem heben Posner und Epenstein hervor, dass die quantitative Bestimmung nur eine sehr approximative, wenn auch für die Praxis genügende, sei.

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. XV, S. 516.

Roos[1]) benutzte beide Naphtollösungen, sowohl die alkoholische wie die Chloroformlösung. Die Grenze der Reaction fand er ebenso wie Luther, bemerkt jedoch, dass Einübung auf die Reaction an Zuckerlösungen erforderlich sei und die Subjectivität des Beobachters in Betracht komme. Die meisten reinen Schwefelsäuren des Handels sind nach ihm nicht zu brauchen, weil sie mit der α-Naphtollösung störende Grünfärbungen geben. Für die Beurtheilung über den Eintritt der Reaction hielt sich Roos allein an den Farbenring, nicht an die beim Umschütteln auftretende Färbung, weil er gefunden hatte, dass die ihm zu Gebote stehenden Reagentien nicht immer eine rein gelbliche Farbe gaben, wie Luther beobachtet hat, sondern mitunter auch ein röthlicher Schimmer auftrat, besonders nach einigem Stehen der Mischung.

Treupel[2]), der gleichfalls im Baumann'schen Laboratorium arbeitete, weicht von Roos wiederum in einigen Punkten ab. Er verwirft zunächst das Chloroform als Lösungsmittel des α-Naphtols und wendet statt dessen theils durch Kohle gereinigten Aethylalkohol, theils acetonfreien Methylalkohol an. Im Gegensatz zu Roos bevorzugt er die bei kräftigem Umschütteln resultirende Mischfarbe vor der Beobachtung des Farbenringes, er scheint also das Auftreten eines röthlichen Schimmers beim Mischen der Reagentien für sich nicht beobachtet zu haben. Die relativen Mengenverhältnisse von Zuckerlösung resp. Harn, α-Naphtollösung und Schwefelsäure wählt Treupel wie Roos[3]).

Ueber die Concentration der α-Naphtollösung habe ich bei Treupel keine Angabe finden können, vermuthlich ist 10procentige gemeint.

Ueber den erforderlichen Grad der Reinheit der Schwefelsäure hat Treupel Folgendes ermittelt: Bei seinen Vorversuchen constatirte Treupel zunächst, dass die ihm zu Gebote

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr., 1891, No. 8.

[2]) Diese Zeitschr., Bd. XVI, S. 51.

[3]) Nur an einer Stelle — S. 51 unten — spricht Treupel von 2 cbcm. Schwefelsäure statt 1 cbcm., vermuthlich ist dieses nur ein Druckfehler.

stehende Schwefelsäure keineswegs den Grad der Reinheit besass, welche Luther verlangt. Treupel fährt dann fort: «Da ich eine solche Schwefelsäure nirgend woher erhalten konnte[1]) und auf Selbstdestillation der mir zu Gebote stehenden Schwefelsäure verzichten musste, so suchte ich nach einer Methode, welche es mir ermöglichte, auch mit dieser Schwefelsäure die Reaction gut ausführen zu können. Ich stellte durch zahlreiche Versuche fest, dass man ohne Beeinträchtigung der Schärfe der Reaction eine bis zu einem gewissen, allerdings geringen Grade verunreinigte Schwefelsäure benutzen kann, sofern man sich bei der Beurtheilung nicht an den Farbenring, sondern an die Farbe des Reactionsgemisches hält»[2]). Die Schwefelsäure kann nach ihm bis zu 0,00006 °/₀ Salpetersäure enthalten, ohne dass bei Anwendung der Mischung die Empfindlichkeit der Reaction darunter leidet. Eine Angabe, auf welchem Wege diese Grenze festgestellt ist, findet sich nicht; auf directem Wege durch Zumischung von Salpetersäure zu Schwefelsäure kann diese Zahl nicht ermittelt sein, da es ja Treupel an der erforderlichen vollkommen salpetersäurefreien Schwefelsäure gebrach.

Als Grenze der Reaction nimmt Treupel bei Anwendung von 1 Tropfen Traubenzuckerlösung einen Gehalt der Traubenzuckerlösung von 0,01 °/₀ an.

Ueberblickt man diese Detailangaben, die fast alle aus demselben Laboratorium stammen, so lässt sich nicht verkennen, dass sie manches Auffallende enthalten und in den Einzelheiten auch Widersprüche bestehen. Luther hat eine reine Schwefelsäure zur Verfügung, die sich beim Umschütteln mit α-Naphtol und Wasser gelb färbt (höchstens nach ganz vorübergehender Grünfärbung); auch Roos steht eine solche reine Schwefelsäure zu Gebote, aber sie gibt beim Mischen mit den genannten Reagentien einen leicht röthlichen Schimmer,

---

[1]) Es ist nicht recht verständlich, dass Treupel dieses nicht gelang, während Roos, der einige Zeit vorher in demselben Laboratorium arbeitete, eine hinreichend reine Schwefelsäure zur Disposition hatte.

[2]) Welche Roos verwirft.

er verwirft daher die Schüttelprobe. Treupel wiederum hat keine reine Schwefelsäure zur Disposition, die seinige scheint aber beim Durchschütteln mit α-Naphtol und Wasser keinen röthlichen Schimmer gegeben zu haben, sonst hätte er ja die Schüttelprobe nicht empfehlen können. Diese Differenzen sind gewiss nicht geeignet, ein günstiges Vorurtheil für die Methode zu erwecken.

Mit Hilfe dieses Verfahrens ermittelte Treupel, dass bei der Fäulniss des Harns eine sehr erhebliche Abnahme der Kohlehydrate stattfindet. Auf den ursprünglichen Gehalt berechnet betrug der nach der Fäulniss noch vorhandene Rest von Kohlehydraten:

Harn		nach		Tagen	
Harn	I	nach	44	Tagen	10—20 %,
»	II	»	47	»	50 %,
»	III	»	31	»	40 %,
»	IV	»	30	»	33 %.

Ich habe mich nicht entschliessen können, diese Methode zu quantitativen Bestimmungen des Kohlehydratgehaltes anzuwenden. Es liegt auf der Hand, dass man mit derselben nur ziemlich grobe Annäherungen erreichen kann. Es ist sicherlich schon eine sehr günstige Voraussetzung, wenn man annimmt, dass ein geübter Beobachter im Stande ist, die Reaction, welche eine Lösung von 0,02 % Traubenzucker gibt, von einer solchen zu unterscheiden, die man mit 0,022 oder 0,018 % erhält. Dieses vorausgesetzt, würde der Fehler immer noch ± 10 % betragen. Diese Annahme ist aber sehr günstig und ich muss offen gestehen, sie trifft für mich bei Weitem nicht zu, ja was noch schlimmer ist, es kommen bei diesen extremen Verdünnungen mitunter vollständige Fehlschläge vor. Wenn man eine Anzahl von Proben anstellt mit stark verdünnter Traubenzuckerlösung — 1 Tropfen von 0,02 % — oder Harn gleich stark verdünnt, so ist die Intensität der Farbenentwickelung nach Zusatz der Reagentien durchaus nicht immer gleich, sondern wechselnd, ja es kommen mitunter sogar Fehlschläge vor. Das ist auch nicht besonders wunderbar, da sich das α-Naphtol in fester Form ausscheidet, die sehr wechselnd ist und dementsprechend auch nicht gleich-

mässig in die Reaction eintritt. Was die Frage, ob «Ringprobe», ob «Schüttelprobe», betrifft, so muss ich sagen, dass ich es für unmöglich halte, die Intensität von Farbenringen genau abzuschätzen, in dieser Beziehung ist die Schüttelprobe entschieden vorzuziehen. Alles in Allem halte ich die Methode als quantitative für ziemlich unsicher und für den Beobachter recht quälend, wie alle analogen Methoden, ich will jedoch nicht bestreiten, dass sich bei besonderer Einübung auf die Methode eine annähernde Schätzung des Kohlehydratgehaltes mit derselben erreichen lässt. Ich habe mich dieser Reaction nur zur qualitativen Prüfung bedient. Hierzu benutzte ich als Lösungsmittel des α-Naphtols theils Aethylalkohol, theils acetonfreien Methylalkohol (in 10procentiger Lösung) und schloss mich im Uebrigen den Angaben von Treupel und Roos genau an. Was die Schwefelsäure betrifft, so fand ich die frisch aus der Fabrik bezogene Schwefelsäure fast stets den Anforderungen Luther's vollkommen genügend — sie zeigte auch nicht die leiseste Grünfärbung mit α-Naphtollösung —, dagegen genügte sie allerdings nicht mehr, wenn sie einige Zeit ohne besondere Cautelen im Laboratorium aufbewahrt gewesen war. Wie Roos habe ich auch beobachtet, dass mitunter beim Schütteln der Schwefelsäure mit α-Naphtol und Wasser ein leichter röthlicher Schimmer entstand. Man kann sich übrigens auch ohne Destillation eine absolut salpetersäurefreie Schwefelsäure verschaffen, wenn man, wie ich in meiner Arbeit über das sogenannte Choleraroth[1]) angeführt habe, die Schwefelsäure — etwa 100 cbcm. — mit einigen Körnchen Traubenzucker versetzt und dann längere Zeit — es sind etwa 10—15 Stunden erforderlich — im Kjeldahl'schen Kolben erhitzt. Die Anfangs tiefschwarze Schwefelsäure wird dann braun und endlich gelb, eine völlige Entfärbung der Schwefelsäure scheint allerdings nicht erreicht werden zu können, sie bleibt stets etwas gelblich, doch beeinträchtigt diese Färbung die Reaction nicht. — Als Grenze fand ich 0,02% Traubenzucker; darunter gelang mir die Wahrnehmung einer deutlichen Färbung weder bei der «Ringprobe», noch bei der «Schüttelprobe».

[1]) Virchow's Arch., Bd. 110, S. 369.

II. Die Bestimmung der Huminsubstanz.

Um die Huminsubstanz aus Harn zu erhalten, wurde, im Wesentlichen v. Udránszky folgend, regelmässig folgendermassen verfahren:

1 Liter Harn wird mit 100 cbcm. Salzsäure — 1,12 sp. G. — gemischt 48 Stunden lang zur Abscheidung des grössten Theiles der Harnsäure bei etwas kühler Zimmertemperatur stehen gelassen, filtrirt und nachgewaschen. Filtrat + Waschwasser werden bis auf etwa 400 cbcm. eingedampft, dann in einen Kolben übertragen und in diesem am Rückflusskühler 16—18 Stunden gekocht; der Inhalt des Kolbens dann in ein Becherglas gespült, mit Wasser nachgewaschen, so dass das Volumen etwa 800 cbcm. betrug, mehrere Tage stehen gelassen, dann durch ein kleines gewogenes Filter filtrirt, Anfangs mit kaltem, dann mit heissem Wasser bis zum Verschwinden der Salzsäurereaction gewaschen, dann einige Male mit Alkohol absolut., schliesslich mehrmals mit Aether gewaschen, getrocknet, gewogen. Nach der Wägung wurde die Huminsubstanz durch anhaltendes Aufgiessen von verdünntem warmem Ammoniak in Lösung gebracht, schliesslich wieder mit Wasser gewaschen und gewogen. In der Regel stimmte das Gewicht des Filters, wenn es auch etwas bräunlich gefärbt war, mit dem Anfangsgewicht überein, mitunter aber war es etwas höher, weil auf dem Filter ein geringer in Ammoniak unlöslicher Rückstand blieb; in jedem Falle wurde das Endgewicht des Filters als massgebend angesehen. — Die Verdünnung und das Stehenlassen wendete ich an, weil ich beobachtet hatte, dass bei directer Filtration des erkalteten Kolbeninhaltes das Filtrat, mit dem Waschwasser vermischt, nach mehrtägigem Stehen noch einen nicht ganz unerheblichen Absatz von Huminsubstanz lieferte. Dies trat bei dem angegebenen Verfahren nicht mehr ein oder nur in verschwindend geringem Grade.

Abweichend von v. Udránszky habe ich also die Niederschläge von Huminsubstanz direct gewogen, während v. Udránszky die Anfangs erhaltenen abfiltrirten und ausgewaschenen Niederschläge in Alkali löst, durch Salzsäure

ausfällt und die Quantität des nunmehr erhaltenen Niederschlages ermittelt. So ist auch Taniguti in den früher publicirten Versuchen zu Werke gegangen. Es ist schon in der Abhandlung desselben hervorgehoben worden, dass diese Niederschläge sehr voluminös sind, also sehr grosse Filter beanspruchen, was die Genauigkeit der Bestimmung in jedem Falle sehr beeinträchtigt, und dass sie sich sehr schwer auswaschen. Dagegen haben die ersten Niederschläge eine sehr dichte Beschaffenheit, waschen sich leicht aus und erfordern nur sehr kleine Filter.

a) Bestimmung aus normalem Harn.

Nach dem angegebenen Verfahren wurde 1 Liter desselben Harns, welcher zu der Bestimmung der Quantität des Benzoylniederschlages gedient hatte, untersucht und zwar von den Harnproben No. 11, 12 und 13.

1 Liter Harn XI lieferte 0,3970 Huminsubstanz.
1 » » XII » 0,3945 »
1 » » XIII » 0,4183 ».

Daraus berechnet sich das Verhältniss der Huminsubstanz zu der Quantität des Benzoylniederschlages:

bei No. XI = 1 : 4,16,
» » XII = 1 : 3,83,
» » XIII = 1 : 4,66.

Im Mittel dieser drei Bestimmungen beträgt das Verhältniss von Huminsubstanz : Benzoylniederschlag 1 : 4,3.

Ich schliesse hieran noch einen Versuch, welcher zu dem Zweck angestellt wurde, um zu sehen, ob die Wahl der Mineralsäure — Salzsäure oder Schwefelsäure — einen Einfluss auf die Quantität der Huminsubstanz ausübt.

Von einer Harnquantität lieferte 1 Liter mit Salzsäure behandelt 0,4523 g. Huminsubstanz. 1 Liter desselben Harns mit 20 cbcm. concentrirter Schwefelsäure versetzt, 2 Tage stehen gelassen, dann abfiltrirt, auf ca. 400 cbcm. eingedampft, 16—18 Stunden am Rückflusskühler gekocht, lieferte 0,435 g. Die Differenz ist, wie man sieht, gering.

Nimmt man das Mittel aus sämmtlichen Bestimmungen der Quantität des Benzoylniederschlages und der vier Humin-

bestimmungen, so ergiebt sich für 1 Liter Harn: Huminsubstanz 0,4134 g., Benzoylniederschlag 2,042 g. Verhältniss von Huminsubstanz : Benzoylniederschlag = 1 : 4,94.

Die oben berechnete Verhältnisszahl dürfte indessen den Vorzug verdienen, da bei dieser die Kohlehydratbestimmungen und Huminbestimmungen an demselben Harn ausgeführt sind.

b) Harn, welcher 3 Monate lang bei Zimmertemperatur gestanden hatte.

Der filtrirte Harn ist fast ganz klar, leicht getrübt, durch wiederholtes Filtriren nicht völlig zu klären, von brauner Farbe, 1028 sp. G., enthält keine durch das Silberverfahren nachweisbare Harnsäure. — 1 Tropfen des Harns gibt deutliche Reaction mit α-Naphtol + Schwefelsäure, dagegen nicht mehr, als der Harn vorher mit dem gleichen Volum Wasser versetzt war.

1. Bestimmung der flüchtigen Fettsäure. 300 cbcm. mit 10 cbcm. concentrirter Schwefelsäure destillirt. Destillat auf 300 cbcm. gebracht. Salzsäuregehalt desselben minimal. 100 cbcm. mit Rosolsäure als Indicator mit Barytwasser titrirt, von welchem 13,35 cbcm. 10 cbcm. der bei den N-Bestimmungen angewendeten Oxalsäurelösungen entsprechen. Zur Neutralisation erfordert 25,9 cbcm. $\times$ 3 = 77,7 cbcm. = 58,2 cbcm. Einviertellauge. Dieses entspricht einem Gehalt an Essigsäure von 2,91 p. M.

2. Bestimmung der Menge des Benzoylniederschlages. Die directe Benzoylirung des Harns (600 Harn, 20 cbcm. Natronlauge + 40 Wasser = 660; es entstand kein Niederschlag; 800 Wasser zugesetzt, 240 cbcm. Natronlauge von 11 %, 30 cbcm. Benzoylchlorid) führte, wie nach den Angaben von Roos über den ammoniakreichen Hundeharn nicht anders zu erwarten stand, trotz der Verdünnung zu keinem positiven Resultat. Es entstand ein reichlicher, krystallinischer, grösstentheils aus Benzamid bestehender Niederschlag.

Es wurden daher 600 cbcm. auf dem Wasserbad bis auf ein kleines Volumen eingedampft bis zur neutralen Reaction, von einer kleinen Quantität eines ausgeschiedenen flockigen

Niederschlages abfiltrirt, nachgewaschen bis zum Volumen von 600 cbcm. Zusatz von Natronlauge bewirkt keine Ausscheidung von Phosphaten. Nunmehr noch 500 cbcm. Wasser, 240 Natronlauge, 30 Benzoylchlorid hinzugefügt. Erhalten 0,3642 g. Benzoylniederschlag = 0,607 g. für 1 Liter.

Weiterhin wurden 500 cbcm. ebenso behandelt, jedoch nur 250 Wasser hinzugesetzt. Erhalten 0,2975 gr. Benzoylniederschlag, also für 1 Liter 0,595. Mittel aus beiden Bestimmungen 0,601 g. für 1 Liter.

Die Eigenschaften des Benzoylniederschlages stimmten, abgesehen davon, dass der Niederschlag etwas bräunlich gefärbt war, im Wesentlichen mit denen des aus normalem Harn erhaltenen Niederschlages überein. Jedenfalls gab er starke Reaction mit α-Naphtol + Schwefelsäure (nach der Angabe Treupel's der Niederschlag direct in Schwefelsäure gelöst). Die Löslichkeit in Alkohol schien geringer zu sein.

3. Zur Bestimmung der Huminsubstanz wurde je 1 Liter Harn direct mit 100 cbcm. Salzsäure eingedampft, dann wie gewöhnlich verfahren. Das Stehenlassen des Harns mit Salzsäure war entbehrlich, da der Harn keine Harnsäure enthielt. Zwei Bestimmungen ergaben 0,3544 und 0,3136, im Mittel also 0,334 Huminsubstanz.

Verhältniss von Huminsubstanz zu Benzoylniederschlag = 1 : 1,8.

Die Quantität der Huminsubstanz hat absolut also nur wenig abgenommen, im Verhältniss zu den Kohlehydraten hat sie bedeutend zugenommen, da diese auf weniger als ein Dritttheil vermindert sind.

c) Harn, welcher 1½ Jahre bei Zimmertemperatur gestanden hat.

Die Bearbeitung dieses Harns fiel zeitlich vor die des ¼ Jahr alten und es ist ein für die Gewinnung der Huminsubstanz nicht zweckmässiges Verfahren eingeschlagen worden; es wurde nämlich von vorneherein das ganze zu Gebote stehende Harnquantum von 4,5 Litern auf dem Wasserbad stark ein-

gedampft, auf 1500 cbcm. aufgefüllt — die Reaction war dabei schwach alkalisch —, dann filtrirt. Es gelang nur, 1240 cbcm. Filtrat zu erhalten und auch dieses nur nach wiederholtem Filterwechsel. Das Filtrat wurde entsprechend der ursprünglichen Concentration des Harns auf 3720 cbcm. aufgefüllt. Der Harn enthielt keine durch das Silberverfahren nachweisbare Harnsäure, die Reaction mit α-Naphtol + Schwefelsäure fiel negativ aus.

1. Benzoylverbindung. a) 1500 cbcm. Harn wurden mit 1200 cbcm. Natronlauge und 150 cbcm. Benzoylchlorid anhaltend geschüttelt. Es entstand eine äusserst spärliche Ausscheidung, welche nach dem Filtriren durch ein gewöhnliches Filter und Auswaschen so fest am Papier haftete, dass sie sich nicht ablösen liess. Da eine Probe an einer kleinen Quantität ergab, dass der Niederschlag auch in heissem Alkohol sich nur sehr unvollständig löste, wurde das Filter nach dem Trocknen zerschnitten, mit Eisessig erhitzt, filtrirt, durch Eingiessen in Wasser gefällt etc. Erhalten 0,2156 g. = 0,1437 p. M.

b) 300 cbcm. Harn mit 120 cbcm. Natronlauge und 15 cbcm. Benzoylchlorid; der Niederschlag, auf einem gehärteten Filter gesammelt, liess sich nach einigem Trocknen gut vom Filter abnehmen. Gewicht nach dem Trocknen 0,0570 g. Der Niederschlag war aschehaltig und hinterliess 0,0045 Asche. Diese abgezogen ergaben sich 0,0525 g. = 0,175 p. M.

c) 400 cbcm. mit 10 cbcm. Natronlauge und 30 cbcm. Wasser = 440 cbcm. Es schied sich ein geringer Niederschlag aus, von welchem abfiltrirt wurde. Vom Filtrat 330 cbcm. = 300 Harn. Dazu 120 cbcm. Natronlauge + 15 cbcm. Benzoylchlorid. Erhalten 0,0462 g. Niederschlag = 0,154 p. M.

Im Mittel der drei Bestimmungen wurden also aus 1000 cbcm. Harn 0,1542 Benzoylniederschlag erhalten.

Was das Verhalten des Benzoylniederschlages betrifft, so habe ich Folgendes zu bemerken:

Der Niederschlag war nicht weiss, sondern von lichtbräunlicher Färbung, löste sich leicht und vollständig in Eisessig, in Alkohol dagegen auch bei anhaltendem Kochen nur

sehr unvollständig; die heiss filtrirte Lösung trübte sich beim Erkalten. Sowohl der ursprüngliche Niederschlag, als auch der in Alkohol unlösliche Antheil desselben gaben sehr schöne Reaction mit α-Naphtol + Schwefelsäure. Die nach dem Erkalten filtrirte alkoholische Lösung trübte sich beim Erkalten milchig, dann flockig, Abscheidung trat jedoch auch nach Zusatz von Salzsäure nicht ein.

Es ist also sicher, dass auch bei 1½ Jahre langem Stehen des Harns ein Theil der Kohlehydrate der Zersetzung entgeht, die Kohlehydrate selbst aber scheinen eine Veränderung zu erfahren, da sie, resp. ihre Benzoylverbindungen, sich anders verhalten, wie die des ursprünglichen Harns. Möglicherweise bilden sich auch Kohlehydrate durch die Bakterien. Dies würde das abweichende Verhalten der Benzoylverbindung erklären.

2. Huminsubstanz. Die von vorneherein eingeschlagene Behandlung des Harns — das Eindampfen — war leider für die Gewinnung von Huminsubstanz aus dem Harn unzweckmässig. Die Quantität der Huminsubstanz musste in Folge dessen zu niedrig ausfallen. Wie bereits für den ¼ Jahr alten Harn, dessen Untersuchung zeitlich nach der Untersuchung des 1½ Jahre alten fällt, bemerkt ist, scheiden sich beim Eindampfen gefaulten Harns flockige Niederschläge aus. Dieselben sind in Alkalien löslich, in Säuren unlöslich; anfangs sind sie nicht so dunkel gefärbt, wie die Huminsubstanz; abfiltrirt und mit verdünnter Salzsäure gekocht, nehmen sie aber allmälig mehr und mehr die Charaktere der Huminsubstanz an. Wenn man also den gefaulten Harn stark eindampft und filtrirt, so fällt die Bestimmung zu niedrig aus. Dieser Punkt ist leider bei dem 1½ Jahre alten Harn übersehen worden. Die erhaltenen Zahlen sind folgende:

1. 1000 cbcm. Harn wie gewöhnlich behandelt lieferten 0,189 Huminsubstanz.

2. 300 cbcm. mit 5 cbcm. concentrirter Schwefelsäure eingedampft und unter zeitweiligem Ersatz des Verdampften mehrere Stunden gekocht, lieferten 0,0603 Huminsubstanz.

Im Mittel wurden also 0,195 g. Huminsubstanz p. M. erhalten.

Verhältniss der Huminsubstanz zu dem Benzoylniederschlag = 1 : 0,79.

Es hat also, wie man sieht, eine weitere Verschiebung des Verhältnisses zwischen den Kohlehydraten und der Huminsubstanz stattgefunden, so dass jetzt die Quantität der Huminsubstanz grösser geworden ist, wie die des Benzoylniederschlages, trotzdem bei der angewendeten Methode die Quantität der Huminsubstanz zu gering gefunden werden musste.

Stellen wir die Verhältnisszahlen noch einmal zusammen, so verhält sich im normalen Harn die Quantität der Huminsubstanz zum Benzoylniederschlag wie 1 : 4,3 (resp. 4,94), in dem $^1/_4$ Jahr alten wie 1 : 1,8, in dem $1^1/_2$ Jahre alten wie 1 : 0,79.

Hieraus folgt ohne Zweifel, dass die Kohlehydrate des gefaulten Harns nicht die einzige Quelle der aus demselben gebildeten Huminsubstanz sein können, ein grosser Theil derselben vielmehr aus anderen Körpern hervorgehen muss. Man kann gegen diesen Schluss noch einen Einwand erheben. Die verschiedenen Autoren haben hervorgehoben, dass bei der Behandlung des Harns mit Natronlauge + Benzoylchlorid die Kohlehydrate nicht völlig ausgefällt werden, ein kleiner Rest vielmehr darin bleibe. Es ist zwar nicht sicher, aber möglich, dass dieser nicht gefällte Antheil stets dieselbe absolute Grösse hat. Ist dem so, so muss die Bestimmung der Kohlehydrate auf diesem Wege ein um so grösseres Deficit ergeben, je kleiner der Gehalt der Flüssigkeit an Kohlehydraten ist. Es lässt sich nicht in Abrede stellen, dass dieser Einwand begründet ist, sicher aber reicht diese Betrachtungsweise nicht aus, um die grossen Differenzen in dem Verhältniss zwischen Huminsubstanz und Benzoylniederschlag zu erklären.

Welche Körper in dem gefaulten Harn die Muttersubstanz der Huminkörper darstellen, bleibt zunächst eine offene Frage, es liegt jedoch sehr nahe, in dieser Beziehung an die Harnsäure zu denken, welche während der Fäulniss völlig verschwindet.

Dass die Kohlehydrate des Harns eine wesentliche Quelle der beim Kochen mit Salzsäure entstehenden Huminsubstanzen

darstellen, ist aus dem Grunde nicht zu bezweifeln, weil erfahrungsgemäss die Kohlehydrate beim Kochen mit verdünnter Salzsäure unter Bildung von Humin zersetzt werden. Es lässt sich auch leicht zeigen, dass der mit Salzsäure gekochte Harn, von dem Humin abfiltrirt, keine Kohlehydrate mehr enthält. Dieser Nachweis ist allerdings durch die Reaction mit NaHO + Benzoylchlorid nicht zu führen wegen der beim Zusatz dieser Reagentien zu dem genannten Filtrat eintretenden massenhaften Bildung von Benzamid (der Harnstoff geht beim Kochen mit Salzsäure zum grossen Theil in Chlorammonium über), welches die etwaige kleine Quantität von Benzoylester der Kohlehydrate ganz verdeckt und der Wahrnehmung entzieht. Auch die Verdünnung dieser Filtrate nützt in diesem Fall nicht. Dagegen ist die Probe mit α-Naphtol + Schwefelsäure beweisend. Sie fällt negativ aus, während Harn mit 10 % Salzsäure (von 1,12 sp. G.) versetzt, die α-Naphtolreaction gibt. Ich will nicht behaupten, dass die Salzsäure die Reaction nicht beeinträchtigt, immerhin fällt sie positiv aus.

Wenn also die eigentliche Beweisführung von Udránszky bezüglich der Betheiligung der Kohlehydrate an der Huminbildung auch nicht glücken konnte, da er dabei die reducirenden Kohlehydrate allein im Auge hatte, so ist doch an der Richtigkeit seiner Anschauung, die sich ausserdem auch auf die notorische Einwirkung der Salzsäure auf die Kohlehydrate stützt, nicht zu zweifeln. Fraglich bleibt dagegen, ob die Kohlehydrate die einzige Quelle sind. Es liegt nahe, auch für die Beantwortung dieser Frage die Fällbarkeit der Kohlehydrate durch Benzoylchlorid + Natronlauge zu benutzen, also einen Harn zuerst damit auszufällen, dann aus dem Filtrat durch Kochen mit Salzsäure Humin darzustellen. Bei der Ausführung dieses Versuches machen allerdings die grossen Quantitäten von Benzoësäure Schwierigkeiten, so dass derselbe in aller Schärfe kaum durchzuführen ist. Dennoch habe ich einige derartige Bestimmungen ausgeführt. Das Verfahren war folgendes: Das Filtrat von dem Benzoylniederschlag (ohne Waschwasser) von 1 Liter Harn, welches sich übrigens beim Aufbewahren ohne Zersetzung hielt, wurde zur Entfernung

der Benzoësäure mit so viel Salzsäure versetzt, dass eine abfiltrirte Probe sich mit Methylviolett grün färbte, die ausgeschiedene Benzoësäure abfiltrirt, wiederholt mit kaltem Wasser nachgewaschen, Filtrat + Waschwasser unter Zusatz von 90 cbcm. Salzsäure (von 1,12 sp. G.) eingedampft, der Schaleninhalt sammt der etwa ausgeschiedenen Benzoësäure in einen Rundkolben übertragen, 16—18 Stunden am Rückflusskühler gekocht, dann wie gewöhnlich mit Wasser verdünnt und einige Tage stehen gelassen. Die Flüssigkeit enthält meistens noch so viel ausgeschiedene Benzoësäure, dass es nicht wohl angeht, dieselbe sammt der ausgeschiedenen Huminsubstanz auf einem gewogenen Filter zu sammeln. Die Benzoësäure wurde daher durch Ausschütteln mit Aether entfernt und die wässerige, die Huminsubstanz suspendirt enthaltende Flüssigkeit durch ein gewogenes Filter filtrirt, die erhaltene Huminsubstanz schliesslich wiederholt mit Alkohol und Aether gewaschen, um alle etwa noch vorhandene Benzoësäure mit Sicherheit zu entfernen.

So wurden zunächst die Filtrate von 11, 12 und 13 (siehe die Tabelle über die Quantität des Benzoylniederschlages) bearbeitet.

Es wurde Huminsubstanz erhalten (aus 1 Liter Harn):

aus XI . . . . 0,1853 g.
» XII . . . . 0,2674 »
» XIII . . . . 0,2580 »

Ebenso lieferte auch das Filtrat vom Benzoylniederschlag des $^1/_4$ Jahr alten Harns beim Kochen mit Salzsäure Huminsubstanz und zwar lieferten 500 cbcm. Harn 0,0722 g. = 0,1444 p. M.

Auch gegen diesen Versuch könnte man den Einwand erheben, dass die Kohlehydrate nicht vollständig durch Benzoylchlorid + Natronlauge gefällt werden. Allein für einen solchen «Rest» ist die Quantität der erhaltenen Huminsubstanz doch offenbar zu gross.

Die weitere Frage, welche Bestandtheile des Harns denn nun ausser den Kohlehydraten noch Huminsubstanzen liefern können, ist freilich bisher nicht mit Bestimmtheit zu be-

antworten. Von den bekannten in grösseren Quantitäten vorhandenen Bestandtheilen scheint kaum eine in Frage zu kommen.

Der Harnstoff findet sich zum Theil in dem salzsauren Filtrat noch erhalten, zum Theil ist er in Chlorammonium übergegangen. Dass er zur Bildung der N-haltigen Huminsubstanz N liefert, hat v. Udránszky nachgewiesen. Dass er ausserdem noch Huminsubstanz liefert, ist sehr unwahrscheinlich. Kreatinin ist in dem salzsauren Filtrat nachweisbar und zwar anscheinend nicht weniger, wie in dem ursprünglichen Harn. Harnsäure findet sich gleichfalls noch, soweit sie nicht durch die Salzsäure vorher entfernt war.

In Betracht kämen noch die Indoxylverbindungen des Harns und die etwaige präformirte Huminsubstanz.

An die Möglichkeit der Betheiligung der Indoxylverbindungen hat v. Udránszky schon gedacht; er schätzt sie jedoch auf Grund eines Doppelversuches, in welchem ein Harn einerseits direct mit Salzsäure behandelt wurde, andererseits nachdem die Indoxylverbindungen vorher daraus entfernt waren, als wenig in Betracht kommend. Streng genommen ist es auch gar nicht erwiesen, dass sie überhaupt in Betracht kommen, dass sie unter allen Umständen zu der Bildung der Huminsubstanzen beitragen. Dieses lässt sich indessen leicht zeigen.

Wenn man den mit 10 % Salzsäure versetzten Harn (nach Abscheidung der Harnsäure) eindampft und das Eindampfen unterbricht, sobald sich eine gewisse Quantität Niederschlag gebildet hat, so erweist sich dieser Niederschlag nach dem Abfiltriren und Auswaschen zu einem mehr oder weniger erheblichen Theil in heissem Alkohol mit rother Farbe löslich, diese Eigenschaft, die den Huminsubstanzen nicht zukommt, verliert der isolirte Niederschlag mehr und mehr, je länger er mit Salzsäure erhitzt wird. Er nimmt nach und nach den Charakter der Huminsubstanz an. Dass diese erste Ausscheidung zum grossen Theil aus Indigoroth und Indigoblau besteht, lässt sich leicht zeigen. Die alkoholische Lösung dieser Ausscheidung wurde verdampft, der Rückstand mit

Aether übergossen, die roth gefärbte ätherische Lösung wiederholt mit ganz verdünnter Natronlauge (die sich gelblich bis bräunlich färbte), dann mit Wasser geschüttelt, dann verdunstet. Aus dem dabei bleibenden Rückstand nahm Alkohol jetzt Indigoroth auf, liess jedoch das Indigoblau ungelöst. Durch Behandeln mit Chloroform, welches eine prächtig blaue Lösung liefert, sowie durch die spectroskopische Untersuchung liess sich das Indigoblau, ebenso wie das Indigoroth, leicht als solches constatiren. Aus dem mit Aether behandelten nicht gelösten Verdampfungsrückstand der ersten alkoholischen Lösung nahm Chloroform noch erhebliche Mengen von rothem Farbstoff — augenscheinlich Indigoroth — auf.

Es kann also nicht zweifelhaft sein, dass die Indoxylverbindungen sich an der Bildung der Huminsubstanzen betheiligen, jedoch ist der Antheil derselben entsprechend der geringen Menge, in welcher sie im Harn vorkamen, wahrscheinlich nur gering.

Was das Vorkommen präformirter Huminsubstanz im Harn betrifft, oder solcher Substanzen, welche den Huminsubstanzen sehr nahe stehen, so ist dies nicht sicher constatirt, aber doch sehr wahrscheinlich. v. Udránszky ist der Ansicht, dass in manchen Fällen die Farbe des Harns davon abhängig sein könne, namentlich in solchen, in denen sich kein Urobilin findet. Auch die Substanzen, welche Eisenchlorid unter bestimmten Bedingungen aus Harn ausfällt, haben augenscheinlich zu den Huminsubstanzen sehr nahe Beziehung. Ich habe auf diesen Zusammenhang schon einmal in dieser Zeitschrift, Bd. XIV, S. 489, hingewiesen.

Eine bestimmte Entscheidung darüber, welche Harnbestandtheile ausser den Kohlehydraten noch zur Bildung von Huminsubstanzen beitragen können, ist zur Zeit nicht zu geben.

Schliesslich könnte man mir wohl noch die Frage vorlegen, wie ich mich zu den früheren Angaben von Taniguti[1]) verhalte, welcher aus gefaultem Harn durchschnittlich mehr

[1]) Diese Zeitschr., Bd. XIV, S. 485.

Huminsubstanz erhalten hat, wie aus frischem, während doch durch die Fäulniss ein Theil der Muttersubstanzen der Huminsubstanz entfernt wird.

Hierauf ist zunächst zu sagen, dass die Kohlehydrate sich offenbar, wie übereinstimmend aus den Beobachtungen von Treupel und den meinigen hervorgeht, recht langsam zersetzen, so dass es ganz auf den Zeitpunkt ankommt, in welchem man die Untersuchung anstellt. Untersucht man den Harn, der etwa eine Woche gefault hat, so bekommt man aus demselben beim Destilliren mit Säuren noch nicht ein Viertel so viel flüchtige fette Säure, wie derselbe Harn nach 3 Monate langem Stehen liefert. In den damaligen Versuchen von Taniguti ist meiner Erinnerung nach auf das Alter des Harns nicht besonders Rücksicht genommen worden, es ist also wohl möglich, dass derselbe, trotzdem er faulig war, doch noch eine erhebliche Quantität Kohlehydrate enthalten hat. Damit ist nun aber noch immer nicht erklärt, dass der faule Harn mehr Huminsubstanz lieferte, wie der frische. Hieran ist meines Erachtens die angewendete Methode Schuld. In den Versuchen von Taniguti wurde der ammoniakalische Harn eingedampft, dann mit Schwefelsäure angesäuert; es entstand schon in der Kälte eine ziemlich reichliche Ausscheidung, welche für sich abfiltrirt und den Huminsubstanzen zugerechnet wurde. Es ist nun sehr wohl denkbar, dass die Quantität dieses ersten Niederschlages abnimmt, wenn man ihn in der für die Gewinnung der Huminsubstanz üblichen Weise mit Salzsäure kocht. Ferner kommt vielleicht in Betracht, dass aus dem ammoniakalischen Harn die Harnsäure nicht vorher entfernt war. Die Resultate, zu denen Taniguti in seiner früheren Arbeit gelangt ist, stehen also mit meinen jetzigen nicht im Widerspruch, wenn auch eine weitere Aufklärung über die Natur und Beschaffenheit der beim einfachen Ansäuern eingedampften ammoniakalischen Harns sich ausscheidenden Substanzen wünschenswerth ist.

Ueber das Auftreten acetylirter Verbindungen nach Darreichung von Aldehyden.

Von

Dr. Rudolf Cohn.

Habilitationsschrift.

(Aus dem Universitätslaboratorium für medic. Chemie u. Pharmakologie zu Königsberg i. Pr.)

(Der Redaction zugegangen am 23. Juli 1892.)

Vor mehreren Jahren haben Herr Prof. Jaffe und ich über Versuche berichtet, die wir mit Fütterung von Furfurol,

$$\begin{array}{l} CH = CH \\ \mid \\ CH = C \end{array} \!\!\! \begin{array}{l} \diagdown \\ \diagup \\ \diagdown \end{array} \begin{array}{l} O \\ \\ C \leqslant \begin{array}{l} O \\ H \end{array} \end{array}$$

dem Aldehyd der Brenzschleimsäure, bei Kaninchen, Hunden und Hühnern angestellt hatten, wobei wir zu folgendem Resultate gelangt waren[1]: Das Furfurol, welches chemisch sehr grosse Analogieen mit dem Benzaldehyd zeigt, verhält sich auch im Thierkörper diesem sehr ähnlich. Es wird zunächst zu der ihm zugehörigen Brenzschleimsäure oxydirt, die zum Theil als solche, zum grössten Theil jedoch mit Glycocoll gepaart, analog der Hippursäure, als Pyromykursäure ausgeschieden wird, bei Hunden in grossen Mengen noch in Verbindung mit Harnstoff als pyromykursaurer Harnstoff. Auch bei Vögeln erwies sich das Verhalten entsprechend dem der Benzoësäure, insofern als es mit Ornithin gepaart als Furfurornithursäure den Thierkörper verlässt[2]. Es zeigte also der Furfuranring

$$\begin{array}{|ccc} CH & = & CH \\ & & \mid \\ & & O \\ & & \mid \\ CH & = & CH \end{array}$$

, von dem sich das Furfurol ab-

---

[1]) M. Jaffe u. Rud. Cohn, Ueber das Verhalten des Furfurols im thierischen Organismus, Berl. Ber., Bd. XX, S. 2311.

[2]) M. Jaffe u. Rud. Cohn, Ueber das Verhalten des Furfurols im Stoffwechsel der Hühner, Berl. Ber., Bd. XXI, S. 3461.

leitet, dieselbe Beständigkeit und dieselben Umsetzungen im Thierkörper, wie der Benzolring.

Das gleiche Verhalten zeigten bei späteren Untersuchungen die Derivate des Thiophens[1], $\begin{matrix} CH = CH \\ | \\ CH = CH \end{matrix} \rangle S$, während das Pyrrol, $\begin{matrix} CH = CH \\ | \\ CH = CH \end{matrix} \rangle NH$, und seine Derivate leichter einer Zerstörung im Thierkörper anheimzufallen scheinen[2]).

Wir hatten damals aber noch eine Synthese des Furfurols bei Hunden und Kaninchen entdeckt, die ganz ohne Analogie dastand und äusserst merkwürdig war. Das Furfurol tritt nämlich mit Essigsäure unter Wasserverlust zusammen zu der Furfuracrylsäure, einer ungesättigten Verbindung von der Zusammensetzung $C_4H_3O \cdot CH = CH \cdot COOH$, die sich noch mit Glycocoll unter Wasseraustritt zu der Furfuracrylursäure paart.

Der Vorgang, dem diese Synthese ihre Entstehung verdankt, ist so aufzufassen, dass das Furfurol als solches mit Essigsäure in Action tritt, wobei der O der Aldehydgruppe und 2 H der CH_3-Gruppe als Wasser austreten unter Zusammentritt der Reste zur Furfuracrylsäure.

$$C_4H_3O \cdot COH + CH_3 \cdot COOH = C_4H_3O \cdot CH = CH \cdot COOH + H_2O.$$

Auch ausserhalb des Thierkörpers lässt sich diese Verbindung bekanntlich leicht herstellen durch mehrstündiges Kochen von Furfurol mit essigsaurem Natron und Essigsäureanhydrid u. zw. entspricht sie der zur Benzolreihe gehörigen Zimmtsäure, die nach der Perkin'schen Synthese durch Kochen von Benzaldehyd mit essigsaurem Natron und Essigsäureanhydrid dargestellt werden kann.

$$C_6H_5 \cdot COH + CH_3 \cdot COOH = C_6H_5 \cdot CH = CH \cdot COOH + H_2O.$$

---

[1]) M. Jaffe u. H. Levy, Ueber die Glycocollverbindung der α-Thiophensäure (α-Thiophenursäure) und ihre Entstehung im Thierkörper, Berl. Ber., Bd. XXI, S. 3458; H. Levy, Ueber das Verhalten einiger Thiophenderivate etc., Dissert. inaug., Königsberg 1889.

[2]) Jacob Ginzberg, Ueber das Verhalten des Pyrrols und einiger seiner Derivate im thierischen Organismus, Dissert. inaug., Königsberg 1890.

Diese Acrylsäuresynthese war uns noch aus dem Grunde von besonderem Interesse, weil man an einen Zusammenhang derselben mit der Harnsäurebildung im Organismus denken konnte, denn die Harnsäure wird jetzt als Derivat der Acrylsäure, als Diureid einer Trioxyacrylsäure, aufgefasst. Wir hatten deshalb vermuthet, dass bei Vögeln, bei denen ja die Harnsäure das Hauptendproduct der N-Umsetzung bildet, noch leichter eine Acrylsäuresynthese sich würde nachweisen lassen und hatten daher auch an Hühner Furfurol verfüttert. Indessen war uns der Nachweis der Furfuracrylsäure bei ihnen nicht gelungen, vielmehr traten als einzige Umwandlungsproducte Brenzschleimsäure und Furfurornithursäure auf.

Die Bildung der Furfuracrylsäure erschien uns als eine so auffallende, dass wir nun weitere Untersuchungen darüber anstellten, ob ihr Auftreten nach Furfurolfütterung nur ein Unicum sei, oder ob auch andere, in den Thierkörper eingeführte Stoffe diese Synthese mit Essigsäure eingingen. Als solche wählten wir eine Reihe von Aldehyden, da diese uns am meisten Aussicht auf Erfolg zu versprechen schienen.

I. Benzaldehyd.

Sehr nahe lag zunächst ein Versuch mit gewöhnlichem Benzaldehyd, der ja zu Benzoësäure oxydirt und mit Glycocoll gepaart als Hippursäure den Thierkörper verlässt. Es bestand daher die Aufgabe, neben diesen Hauptumwandlungsproducten geringe Mengen etwa vorhandener Zimmtsäure, die nach Analogie der Furfuracrylsäuresynthese entstehen musste und die bisher vielleicht hätte übersehen sein können, nachzuweisen. Dieser Nachweis ist bekanntlich mit grossen Schwierigkeiten verbunden, denn erstens liegen die Schmelzpunkte der Benzoësäure (121°) und der Zimmtsäure (133°) sehr nahe zusammen, und zweitens sind auch ihre Löslichkeitsverhältnisse sehr ähnliche, speciell in Wasser sind beide sehr schwer löslich; ausserdem giebt es nur sehr wenig charakteristische Zimmtsäurereactionen. Zum qualitativen Nachweis der Zimmtsäure, auch neben grossen Mengen Benzoësäure, ist am geeignetsten ihre Reaction mit übermangansaurem Kali: Beim vorsichtigen

Versetzen ihrer Lösung mit $KMnO_4$ tritt deutlicher Geruch nach Benzaldehyd, in den sie dabei übergeht, auf, eine Reaction, die die Benzoësäure natürlich nicht geben kann.

Wir begannen mit der Darreichung von Benzaldehyd bei Kaninchen. 7 Kaninchen erhielten im Laufe von 7 Tagen 39,2 gr. Benzaldehyd in Dosen von je 1,4 gr. 2mal täglich subcutan. Sie vertrugen ihn sehr schlecht, starben nach je 2—4 Tagen unter den Erscheinungen von Entkräftung, Lähmung, Tremor, Durchfall, Nephritis, eins auch mit Hämoglobinurie. Auch die gleichzeitige Darreichung von Natr. carbon. oder Natr. acet. in täglichen Dosen von 2 gr. änderte an dem Verlaufe wenig oder nichts. Die immer frisch eingedampften Urine wurden in der Weise verarbeitet, dass sie mit kochendem Alkohol extrahirt, die vereinigten alkohol. Auszüge abgedampft, die Rückstände in wenig Wasser aufgenommen, mit der genügenden Menge verd. Schwefelsäure versetzt und dann mit grossen Portionen Aether mehrfach ausgeschüttelt wurden. Man erhielt beim Abdestilliren der Aetherauszüge auf ca. 300 cbcm. zunächst eine krystallinische Abscheidung von 4,3 gr. Hippursäure, der Aether wurde dann ganz abdestillirt, der Rückstand mit Wasser übergossen, nach einer Stunde die ausgeschiedenen Krystalle abfiltrirt (7—8 gr. Benzoësäure); aus der schwefels. Lösung hatten sich ferner noch ausgeschieden und gingen nicht in den Aether über 16 gr. Krystalle (Hippursäure), schliesslich wurde noch das Filtrat davon mit Essigäther extrahirt und daraus noch eine geringe Menge Krystalle gewonnen, die nach dem Umkrystallisiren bei 188—189° schmolzen (Hippursäure).

Um die Gegenwart von Zimmtsäure resp. einer Zimmtsäure-Glycocollverbindung in diesen einzelnen Portionen nachzuweisen, wurden folgende Versuche angestellt:

1. Die 7—8 gr. Benzoësäure wurden umkrystallisirt, die Krystalle sehen wie Benzoësäure aus, geben nicht die Zimmtsäurereaction (unter Zimmtsäurereaction ist hier und in Folgendem immer die Reaction mit $KMnO_4$ zu verstehen); ihre Mutterlauge gibt schwache Zimmtsäurereaction; sie wird mit Aether extrahirt, die wässerige Lösung gibt keine Reaction mehr; die äther. Auszüge werden abdestillirt, beim Verdunsten

der letzten 30 cbcm. an der Luft scheiden sich zunächst hippursäureähnliche Nadeln aus, die bei 187° schmelzen, also Hippursäure sind, und keine Zimmtsäurereaction geben. Der Aetherrückstand giebt noch schwache Reaction. Er wird mittels $CaCO_3$ in's Kalksalz verwandelt, dessen concentrirte Lösung durch Fällung mit $AgNO_3$ in's Silbersalz.

0,1553 gr. gaben 0,0703 Ag = 45,3 %.
Zimmts. Silber verl. 42,3 % Ag.
Benzoes. Silber verl. 47,1 % Ag.

Es könnte sich danach also um ein Gemenge von benzoësaurem und zimmtsaurem Silber gehandelt haben.

2. 1 gr. der Benzoësäurekrystalle wird aus 350 cbcm. Wasser umkrystallisirt in der Annahme, dass die schwerer lösliche Zimmtsäure sich in verhältnissmässig grösserer Menge ausscheiden würde und dann leichter nachgewiesen werden könnte. Es schieden sich nur wenige Krystalle ab, die ebensowenig wie die Mutterlauge Zimmtsäurereaction gaben.

3. Je 2 gr. der in den Aether übergegangenen und der abfiltrirten Hippursäure wurden durch 4stündiges Kochen mit starkem Barytwasser zersetzt, die nach dem Ansäuern durch Aether extrahirten Krystalle gaben in keinem Falle die Zimmtsäurereaction, die Hippursäure war also jedenfalls frei von einer Zimmtsäure-Glycocollverbindung.

Es ist nach diesen Versuchen, speciell nach dem Auftreten der schwachen Zimmtsäurereaction und der Analyse des Silbersalzes, nicht ausgeschlossen, dass der Benzoësäure geringe Mengen von Zimmtsäure beigemengt waren, indessen konnte ihr Nachweis nicht mit Sicherheit geführt werden.

Zu dem gleichen Resultate führte ein Versuch bei einem Hunde, der innerlich in täglichen Gaben bis zu 10 gr., auf 3 Portionen vertheilt, bei Brod- und Milchfütterung, bei der sich die Bildung der Furfuracrylursäure am ergiebigsten erwiesen hatte, 65,8 gr. Benzaldehyd erhielt. Die Mutterlauge der umkrystallisirten Benzoësäure gab zwar deutliche Zimmtsäurereaction, es gelang aber nicht, die Spuren, um die es sich nur handeln konnte, zu isoliren, man erhielt bei allen Versuchen immer nur Krystalle von reiner Benzoësäure. Auch

in den grossen Massen Hippursäure konnte durch den Spaltungsversuch keine Zimmtsäure nachgewiesen werden.

Dieses negative Resultat konnte nun vielleicht dadurch bedingt sein, dass die eventuell gebildete Zimmtsäure im Thierkörper vor ihrer Ausscheidung wieder zerstört wird, wenigstens wird angegeben, dass in den Organismus eingeführte Zimmtsäure vollständig in Benzoësäure resp. Hippursäure übergeführt wird[1]). Um diese Angabe auf ihre Richtigkeit zu prüfen, machten wir einen Versuch mit Zimmtsäurefütterung bei Kaninchen.

15 gr. Zimmtsäure werden als Na-Salz 2 Kaninchen im Verlauf einer Woche subcutan injicirt, der Harn in gewohnter Weise verarbeitet. Er gibt schon frisch mit $KMnO_4$ den Geruch nach Benzaldehyd. Aus den ätherischen Auszügen erhält man zunächst beim Concentriren 1,3 gr. Krystalle, die keine Zimmtsäurereaction geben. Sie werden aus Wasser mit Thierkohle umkrystallisirt, es scheidet sich 1 gr. aus, die Krystalle sehen aus wie Hippursäure, schmelzen bei 188—189°, sind wohl reine Hippursäure.

Nach dem Ausschütteln mit Aether werden aus der schwefelsauren Lösung 5,3 gr. Krystalle abfiltrirt, die auch nicht die Zimmtsäurereaction geben. Es wird davon 1 gr. mit $Ba(OH)_2$ zersetzt, der nach dem Ansäuern in Aether lösliche Antheil gibt schwache Zimmtsäurereaction, schmilzt nach dem Umkrystallisiren bei 127—128°, also zwischen Benzoësäure und Zimmtsäure. Die übrigen 4,2 gr. werden umkrystallisirt, schmelzen bei 190—192°, nach nochmaligem Umkrystallisiren bei 190—193°. Aus ihrer Mutterlauge wurden Krystalle erhalten, die bei 188—191° schmelzen. Der etwas höhere Schmelzpunkt, sowie die schwache Zimmtsäurereaction des Spaltungsproductes deuten darauf hin, dass der Hippursäure möglicherweise etwas Zimmtsäure-Glycocoll beigemengt ist, doch gelang nicht ihre Isolirung.

Nach dem Abfiltriren der 5,3 gr. Hippursäurekrystalle wird die Hälfte des schwefelsauren Filtrates noch stark mit

---

[1]) Annalen, Bd. 44, S. 344 (cit. nach Beilstein).

HCl versetzt und 4 Stunden am Rückflusskühler gekocht, dann 3mal mit Aether extrahirt. Der Rückstand einer kleinen Portion wird krystallinisch und gibt starke Zimmtsäurereaction. Der gesammte Rückstand wird 2mal aus Wasser umkrystallisirt, man erhält 0,1 gr., die nicht scharf bei 90—100° schmelzen; es sind unterm Mikroskop lange dicke Nadeln und unregelmässige Blättchen. Es wird davon ein Silbersalz gemacht.

0,0488 gr. gaben 0,0206 Ag = 45,9%.

Es handelt sich also höchstwahrscheinlich um ein Gemenge von Benzoësäure und Zimmtsäure, das durch Spaltung aus einem Gemenge von Hippursäure und Zimmtsäure-Glycocoll erhalten wurde.

Die zweite Hälfte des schwefelsauren Filtrates wurde mit Essigäther ausgeschüttelt, man erhält daraus nur einige Krystalle, die nach dem Umkrystallisiren bei 190° schmelzen.

Aus den zuerst erhaltenen Aetherauszügen wurde nach dem Abfiltriren der 1,3 gr. Hippursäure der Aether vollständig verdunstet, der bald krystallinisch erstarrende Rückstand gab starke Zimmtsäurereaction. Er wurde zur Reinigung in verd. Na_2CO_3 gelöst, 3mal mit Aether extrahirt, wieder mit H_2SO_4 angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Beim Verdunsten des letzten Aetherrestes an der Luft schied sich zunächst etwas Hippursäure ab, der Aether wird davon abgegossen und ganz verdunsten gelassen; der krystallinische Rückstand schmilzt nach dem Umkrystallisiren bei 134°; es sind 0,2 gr., die nochmals umkrystallisirt bei 135—136° schmelzen; sie werden durch Fällung ihres Ammoniaksalzes mit $AgNO_3$ in's Silbersalz übergeführt.

0,1065 gr. gaben 0,0448 Ag = 42,1%.
Zimmtsaures Silber verlangt Ag = 42,3%.

Es liegt hier also reine Zimmtsäure vor. Aus diesem Versuche lässt sich schliessen, dass nur ein sehr kleiner Antheil der verabreichten Zimmtsäure unverändert und ungepaart in den Urin übergeht, der bei Weitem grösste wird in Hippursäure übergeführt, der höchstwahrscheinlich eine geringe Menge einer Zimmtsäure-Glycocollverbindung beigemischt ist. Danach scheint in der That die Möglichkeit

nicht ausgeschlossen, dass nach Fütterung mit Benzaldehyd ein, wenn auch geringer, Theil in Zimmtsäure übergeführt wird, der dann wieder einer secundären Umwandlung in Benzoësäure anheimfällt.

II. Thiophenaldehyd.

Als nächsten Aldehyd wählten wir den Thiophenaldehyd, der sich von dem Furfurol nur durch das Vorhandensein eines S an Stelle des O unterscheidet und von dem man daher ein ganz analoges Verhalten erwarten durfte.

$$\text{Furfurol} \quad \begin{array}{l} CH = CH \diagdown \\ | \qquad\qquad\quad > O. \\ CH = C \cdot \diagup COH \end{array}$$

$$\text{Thiophenaldehyd} \quad \begin{array}{l} CH = CH \diagdown \\ | \qquad\qquad\quad > S. \\ CH = C \cdot \diagup COH \end{array}$$

Von Thiophenaldehyd standen uns wegen seines hohen Preises — 100 gr. sollten 1000 Mark kosten — nicht grössere Mengen zur Verfügung. Es gelang uns nach längerer Arbeit, etwas über 20 gr. rein darzustellen, die wir an Kaninchen und einen Hund verfütterten.

Zunächst erhielten 3 Kaninchen an 2 Tagen im Ganzen 5,9 gr. in einer Emulsion mittels Schlundsonde in den Magen. Ein Kaninchen starb danach unter lähmungsartigen Erscheinungen, bei der Section fanden sich massenhaft Hämorrhagieen in der Magenschleimhaut.

Die gesammelten Urine wurden wie oben verarbeitet, man erhielt daraus etwa 3 gr. einer Substanz, deren Schmelzpunkt (171°), Löslichkeitsverhältnisse und Krystallform, ferner Analyse des Kalksalzes sie als reine Thiophenursäure erwiesen. Ungepaarte Thiophensäure wurde nicht gefunden, ebenso keine Spur einer Acrylsäureverbindung.

Darauf gaben wir einem Hunde bei Brod- und Milchnahrung an 4 Tagen je 3 gr. Thiophenaldehyd subcutan. Die Urine wurden wieder eingedampft, mit Alkohol extrahirt, die vereinigten Alkoholauszüge abgedampft, mit Wasser aufgenommen, mit verd. H_2SO_4 versetzt und mit Aether aus-

geschüttelt. Nach einmaligem Schütteln schied sich in der sauren wässerigen Lösung eine Menge nadelförmiger Krystalle ab, die sich erst nach 11maligem Ausschütteln mit immer erneuten grossen Portionen Aethers in diesem vollständig gelöst hatten. Beim Abdestilliren auf etwa $^1/_2$ Liter schieden sich zunächst Krystalle ab, im Ganzen 3 gr.; beim weiteren Eindampfen auf etwa 100 cbcm. und ebenso beim Versetzen des letzten Aetherrückstandes mit Wasser erhält man zusammen fernere 3 gr. Krystalle. Letztere schmelzen bei 170°, sind also jedenfalls Thiophenursäure, was auch die Analyse des Ba-Salzes, das feine, rosettenförmig an einander gelagerte Nadeln bildet, und eine S-Bestimmung ergibt:

0,2743 gr. des Ba-Salzes, bei 105° getrocknet, gaben 0,2566; Verlust = 6,4% H_2O.

0,2566 gaben 0,1178 $BaSO_4$ = 0,06926 Ba = 26,9%.

Thiophenursaurer Baryt $(C_7H_6SNO_3)_2Ba + 2\ H_2O$ verl. H_2O = 6,7%; das wasserfreie Salz verl. Ba = 27,1%.

Zur S-Bestimmung wurde die Substanz mit rauchender HNO_3 im zugeschmolzenen Rohre allmälig bis 360° erhitzt.

0,2059 gr. gaben 0,2491 $BaSO_4$ = 0,03421 S = 16,6%; verl. S = 17,3%.

Die 3 gr., die sich zuerst aus dem Aether abgeschieden hatten, schmolzen schon bei 134°. Sie wurden in Alkohol gelöst, mit Thierkohle entfärbt und mit Benzol versetzt, es scheiden sich zarte, farblose Nadeln ab, die bei 136° schmelzen. Da es sich nach ihrem ganzen Verhalten um eine Harnstoffverbindung zu handeln schien, so wurden zum Beweise dessen 0,48 gr. in Wasser gelöst, worin sie sich in der Kälte schwer lösen, mit $Ba(OH)_2$ alkalisch gemacht, der Barytüberschuss durch CO_2 entfernt, das Filtrat zur Trockne verdampft, mit Alkohol absol. verrieben mehrere Stunden stehen gelassen, darauf der Alkohol abfiltrirt und zur Gewinnung des Harnstoffes eingedampft, das Barytsalz in Wasser gelöst und mit Alkohol und Aether gefällt.

Nach dem Eindampfen des Alkohols bleiben lange, spitze Nadeln zurück, die sich in wenig Alkohol absol. trübe lösen,

die Trübung, die wie fein vertheilter S aussieht, setzt sich nach 24 Stunden zu Boden, das klare, eingeengte Filtrat wird mit Benzol versetzt; es scheiden sich über 1 cm. lange, farblose, zarte Nadeln ab, die bei 132° schmelzen, mit HNO_3 die charakteristischen Krystalle des salpetersauren Harnstoffes geben, beim Erhitzen im trockenen Röhrchen NH_3 entwickeln, der Rückstand gibt Biuretreaction; es ist also Harnstoff.

Das Barytsalz bildet kleine Nadeln; nach 2maligem Umkrystallisiren wird davon eine Ba-Bestimmung gemacht.

0,3983 gr., bei 105° getrocknet, gaben 0,3717; Verlust = 0,0266 = 6,7 % H_2O.
$BaSO_4$ = 0,1704; Ba = 0,1002 = 26,9 % des wasserfreien Salzes.
Verl.: H_2O = 6,7 %; Ba = 27,1 %.

Schliesslich wurde die Harnstoffverbindung nochmals aus Alkohol und Benzol umkrystallisirt, bildet zarte, asbestglänzende Nadeln, die bei 136° schmelzen. Es wird davon eine N-Bestimmung nach Dumas gemacht.

0,1382 gr., bei 100° getr., gaben N = 20,6 cbcm. bei t = 22° und Ba = 769,5 mm. N = 17,1 %. Verl. N = 17,1 %.

Ungepaarte Thiophensäure wurde nicht gefunden und ebensowenig die gesuchte Acrylsäureverbindung. Auch hier konnte man daran denken, dass dieselbe zwar gebildet, aber im Organismus wieder in Thiophensäure zurückverwandelt wird. Diese Vermuthung erhält eine gewisse Stütze durch folgenden Versuch:

Aus 5 gr. Thiophenaldehyd wurde durch 8stündiges Kochen am Rückflusskühler mit Essigsäureanhydrid und essigsaurem Natron in dem Verhältniss, wie es bei der Zimmtsäuresynthese vorgeschrieben ist, Thienylacrylsäure dargestellt. Wir erhielten nach einmaligem Umkrystallisiren 0,27 gr. lange, brüchige, farblose Nadeln, die bei 144—145° schmelzen. Sie werden als Na-Salz einem Kaninchen subcutan injicirt und der Urin der nächsten beiden Tage verarbeitet. Aus dem mit Wasser versetzten Aetherrückstand erhielten wir nach einmaligem Umkrystallisiren 0,05 gr. hippursäureähnliche Nadeln, die bei 171—172° schmelzen und mit rauchender HNO_3 sich nicht roth färben (Reaction auf Thienylacrylsäure), also Thio-

phenursäure sind. Auch hier wird demnach die Acrylsäureverbindung vom Organismus in die beständigere Thiophensäure zurückverwandelt, so dass sich also dieser Vorgang bei den Acrylsäureverbindungen der Benzoësäure, Brenzschleimsäure und Thiophensäure in ganz gleicher Weise vollzieht.

III. Aldehyd, Paraldehyd, Chloralhydrat und Vanillin.

Nachdem diese Versuche, weitere Beispiele für die Acrylsäuresynthese zu gewinnen, fehlgeschlagen waren, prüften wir noch das Verhalten von dem gewöhnlichen Aldehyd, Paraldehyd, Chloralhydrat und Vanillin, dem Methyläther des Protocatechualdehyds. Ich kann mich über diese Aldehyde sehr kurz fassen. Die ersten drei wurden in Dosen bis zu 10 gr. täglich auf 3 Portionen vertheilt an einen grossen Hund verfüttert und zwar in den Gesammtmengen von 47 resp. 48 resp. 84 gr., und scheinen bis auf die Bildung von Urochloralsäure nach Chloralhydrat vollständig im Organismus zerstört zu werden, wenigstens gelang es uns nicht, davon ableitbare Producte aus den Urinen zu gewinnen.

Das Vanillin, das wir einem Kaninchen in Dosen von 0,5—1,5 gr. innerlich bis zur Gesammtdosis von 8,5 gr. gaben, wonach es starb, wurde entsprechend den Untersuchungen von Preusse[1]) in Vanillinsäure übergeführt, ein kleiner Theil geht unverändert durch den Thierkörper hindurch. Auf die von Preusse gefundenen Aetherschwefelsäuren haben wir nicht weiter unser Augenmerk gerichtet und eine Acrylsäureverbindung gelang es uns nicht nachzuweisen.

IV. Nitrobenzaldehyde.

Ich habe früher erwähnt, dass der Nachweis kleiner Mengen Zimmtsäure neben grossen Mengen Benzoësäure und ihre Isolirung daraus sehr grosse Schwierigkeiten darbietet, die es uns nicht gelang zu überwinden. Ich dachte nun daran, mir diese Aufgabe dadurch zu erleichtern, dass ich statt des

---

[1]) C. Preusse, Ueber das Verhalten des Vanillins im Thierkörper, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 4, S. 209.

gewöhnlichen Benzaldehyds einen substituirten wählte, und zwar erschienen mir als sehr geeignet hierzu die 3 isomeren Nitrobenzaldehyde, da die Nitrobenzoësäuren durchschnittlich einen um etwa 40° niedrigeren Schmelzpunkt zeigen, als die entsprechenden Zimmtsäuren, so dass man hoffen durfte, eventuell vorhandene Nitrozimmtsäure leichter nachweisen zu können.

a) Metanitrobenzaldehyd.

Zunächst wählte ich zu meinen Versuchen den m.-Nitrobenzaldehyd als den am leichtesten zugänglichen. Fütterungsversuche mit den Nitrobenzaldehyden sind vor einigen Jahren von Sieber und Smirnow aus dem Nencki'schen Laboratorium veröffentlicht worden[1]), die bei Hunden zu dem bemerkenswerthen Resultate kommen, dass sich die Aldehyde der 3 Reihen ganz verschieden verhalten, indem der p.-Nitrobenzaldehyd nur p.-nitrohippursauren Harnstoff gab, der m.-Nitrobenzaldehyd nur m.-Nitrohippursäure, und der o.-Nitrobenzaldehyd ganz ungepaart den Thierkörper verlässt. Um dies gleich vorweg zu nehmen, so konnte ich ihre Angaben zunächst in Bezug auf den m.-Nitrobenzaldehyd nicht bestätigen.

Ich gab einem grossen Hunde täglich 2mal je 1,5 gr. in Kapseln innerlich bis zur Gesammtmenge von 20 gr. Der Urin zeigte nie etwas Besonderes und wurde in der gewöhnlichen Weise verarbeitet. Die in Wasser gelösten und mit verd. H_2SO_4 versetzten Rückstände der alkoholischen Auszüge wurden 6mal mit grossen Portionen Aether extrahirt. Aus den vereinigten Aetherauszügen schied sich schon nach mehrstündigem Stehen eine Menge Krystalle ab, $2^1/_2$ gr., die davon abfiltrirten Auszüge wurden auf etwa 200 cbcm. abdestillirt, es schieden sich $5^1/_2$ gr. ab, aus der schwefelsauren Lösung scheiden sich nach dem Ausschütteln mit Aether noch eine Menge Krystalle ab, die abfiltrirt und, ohne ausgewaschen zu werden, auf einer Thonplatte abgesogen werden, es bleiben $7^1/_2$ gr. zurück. Nach dem Abdestilliren des letzten Aethers bleibt ein Oel, das auf

[1]) N. Sieber u. A. Smirnow, Ueber das Verhalten der 3 isomeren Nitrobenzaldehyde im Thierkörper, Monatshefte f. Chemie etc., Bd. VIII, 1887.

Zusatz von Wasser krystallinisch erstarrt; nach dem Absaugen der abfiltrirten Krystalle auf einer Thonplatte blieben 2,8 gr. fast farbloser Krystalle, die sich als m.-Nitrohippursäure erwiesen. Die ersten 3 Abscheidungen, im Ganzen 15½ gr., waren in ihren Eigenschaften unter einander identisch, aber verschieden von der m.-Nitrohippursäure. Ihr Schmelzpunkt lag zunächst bei 151°, während die m.-Nitrohippursäure bei 165° schmolz. Sie wurden mehrmals aus Alkohol und Benzol umkrystallisirt, bilden fast farblose, mikroskopisch lange, dicke, fächerförmig angeordnete Prismen, die in reinem Zustande bei 155° schmelzen. 1 gr. der aus den Aetherauszügen erhaltenen, mehrmals umkrystallisirten Krystalle wird in Wasser gelöst, heiss mit $BaCO_3$ neutralisirt, das Filtrat eingedampft, der Rückstand mit absol. Alkohol verrieben, das Filtrat und der Waschalkohol zur Trockne verdampft; es bleiben 0,2 gr. Nadeln, die in Wasser leicht löslich sind, mit HNO_3 und $C_2O_4H_2$ die charakteristischen Krystalle der entsprechenden Harnstoffverbindungen geben, beim Erhitzen NH_3 entwickeln, der Rückstand gibt die Biuretreaction und nach dem Umkrystallisiren aus Alkohol und Benzol schmelzen sie bei 127°. Es ist also Harnstoff.

Das in Alkohol unlösliche Ba-Salz wird aus Wasser umkrystallisirt und H_2O- und Ba-Gehalt bestimmt:

0,5998 gr., bei 110° getr., gaben 0,5811 gr. Verlust = 0,0187 = 3,12 % H_2O.

0,5811 gr. gaben 0,2298 $BaSO_4$ = 0,1351 Ba = 23,25 %.

m.-nitrohippurs. Baryt $(C_9H_7(NO_2)NO_3)_2Ba + H_2O$ verl. H_2O = 2,99 %; das wasserfreie Salz verl. Ba = 23,49 %.

Das Hauptumwandlungsproduct, das die Fütterung mit m.-Nitrobenzaldehyd ergab, ist also m.-nitrohippursaurer Harnstoff, nur ein geringer Antheil m.-Nitrohippursäure. Dass Sieber und Smirnow die Harnstoffverbindung nicht fanden, liegt wahrscheinlich an ihrer Methode, sie schüttelten nicht mit Aether aus, sondern säuerten die Rückstände der alkohol. Auszüge an und filtrirten die ausgeschiedenen Krystalle ab. In wässeriger Lösung ist aber die Harnstoffverbindung nicht beständig, wie mir ein Versuch ergab, bei dem ich 0,8 gr.

aus wenig Wasser umkrystallisirte; es schieden sich 0,6 gr. hippursäureähnliche Nadeln ab, die bei 165—167° schmolzen, also m.-Nitrohippursäure sind, während aus dem Filtrat sich 0,13 gr. fast reiner Harnstoff gewinnen liess.

Jedenfalls besteht danach der tiefgreifende Unterschied, den Sieber und Smirnow für die 3 Reihen constatirten, nicht.

Zu einem ganz anderen Resultate führten die Versuche, die ich mit m.-Nitrobenzaldehyd bei Kaninchen anstellte und zu deren Beschreibung ich nunmehr übergehe. Ich gab den Aldehyd innerlich in Dosen zu 1 gr., die ich in 3—5 cbcm. Alkohol löste, mittels Schlundsonde in den schon vorher mit etwas Wasser gefüllten Magen eingoss und mit grösseren Mengen Wassers nachspülte. Die Kaninchen vertrugen ihn sehr schlecht, gingen im Durchschnitt nach Verabreichung von 4—5 gr., u. zw. jeden Uebertag 1 gr., zu Grunde. Die Urine wurden in der gewöhnlichen Weise verarbeitet. Als die sauren Aetherauszüge nach Verabreichung von im Ganzen 20 gr. auf etwa 100—200 cbcm. abdestillirt wurden, schied sich zunächst eine Substanz krystallinisch aus, die ganz andere Eigenschaften als die der erwarteten Nitrohippursäure zeigte und zu deren näherer Beschreibung ich weiter unten übergehen werde. Es waren im Ganzen 2 gr. Die ätherische Mutterlauge wird ganz abdestillirt, der Rückstand mit viel Wasser übergossen und durchgeschüttelt, es scheiden sich 5,2 gr. Krystalle ab, die nach dem Umkrystallisiren bei 140° schmelzen und vollständig sublimiren, also m.-Nitrobenzoësäure sind, die bei 141° schmelzen soll. Die erste Mutterlauge von den 5,2 gr. wird mit Aether extrahirt, man erhält daraus 1 gr., die nach einmaligem Umkrystallisiren bei 165° schmelzen und danach, wie nach der Analyse des Silbersalzes sich als m.-Nitrohippursäure erwiesen.

1. 0,1323 gr. (durch Fällung des NH_3-Salzes mittels $AgNO_3$ dargestellt, bildet unterm Mikroskop dichte Büschel feiner, langer, geschwungener Nadeln) gaben 0,0427 Ag = 32,3 %.
2. 0,0452 gr. gaben 0,0146 Ag = 32,3 %.

Nitrohippursaures Silber verl. Ag = 32,6 %.

Die Ausscheidungsverhältnisse der 3 Substanzen waren in allen Versuchen ziemlich dieselben, speciell wurden von der zuerst aus dem Aether auskrystallisirten immer nur ca. 10 % des verfütterten Nitrobenzaldehyds gewonnen. Einige Male kam es vor, dass sich aus dem Aether nichts ausschied; man konnte die Substanz dann leicht gewinnen, wenn man den Aether ganz abdestillirte, den Rückstand mit Wasser übergossen 24 Stunden stehen liess, die dann ausgeschiedenen Krystalle abfiltrirte und die darin mitenthaltene Nitrobenzoësäure durch mehrmaliges vorsichtiges Abspülen mit Aether entfernte. Es blieb dann die in Rede stehende Substanz zurück.

Die äusseren Eigenschaften derselben waren folgende: Sie war sehr schwer löslich in Aether, leicht in kochendem Alkohol, in kochendem Wasser löste sie sich sehr schwer auf und schied sich fast ganz daraus wieder ab. Von 0,5 gr. der reinen Substanz, die ich in 75 cbcm. Wasser nach längerem Kochen auflöste, schieden sich beim Erkalten über 0,45 wieder aus; es entspricht das einer Löslichkeit von etwa 1 : 1500—2000 kalten Wassers. Am besten konnte sie umkrystallisirt werden aus verd. Alkohol oder aus viel heissem Wasser. Sie schied sich daraus in mikroskopisch feinen, langen, stark gebogenen und baumförmig verästelten Nadeln aus, die in ganz reinem Zustande, nach etwa 10maligem Umkrystallisiren, bei 248° unter Gasentwickelung schmolzen. Die Krystalle sublimiren.

Die Analysen ergaben Werthe, die mit der Formel $C_9H_9NO_3$ übereinstimmen.

1. 0,1601 gr. (bei 105° getr.) gaben
   0,0790 H_2O = 0,008777 H = 5,48 %, und
   0,3578 CO_2 = 0,09757 C = 60,9 %.
2. 0,1836 gr. gaben
   0,0869 H_2O = 0,00959 H = 5,2 %, und
   0,4062 CO_2 = 0,1108 C = 60,35 %.
3. 0,1726 gr. (nach Kjeldahl) lieferten NH_3 entspr. 3,8 cbcm. ¼-Normallauge = 0,0133 N = 7,7 %.

	$C_9H_9NO_3$ verl.:	Gefunden:
C =	60,3 %	60,9 und 60,35 %
H =	5,03 %	5,48 und 5,2 %
N =	7,8 %	7,7 %.

Von Salzen wurden ein Silber- und ein Ca-Salz dargestellt:

a) Silbersalz.

Dasselbe wurde aus dem NH_3-Salz durch Fällung mittels $AgNO_3$ dargestellt. Der zunächst amorphe Niederschlag löst sich in heissem Wasser schwer, beim Abkühlen scheiden sich feine und grobe Nadeln aus; aus sehr verd. Lösung scheiden sich mikroskopisch lange Nadeln aus, die sich rosettenförmig lagern.

0,3227 gr., bei 105° getr., gaben 0,1223 Ag = 37,9%.

$C_9H_8NO_3Ag$ verl. Ag = 37,8%.

b) Calciumsalz.

0,5 gr. der reinen Substanz wurden in heissem Wasser gelöst, mit Kalkmilch versetzt, filtrirt, CO_2 durchgeleitet, aufgekocht und das Filtrat auf ein kleines Volumen eingedampft, nochmals filtrirt und auf 5 cbcm. eingeengt; es scheiden sich feine Nadeln und dicke grosse Prismen aus.

0,4402 gr. (lufttrocken) gaben bei 110° bis zur Gewichtsconstanz getrocknet 0,3844 gr. Verlust = 0,0558 = 12,8% H_2O.

$(C_9H_8NO_3)_2Ca + 3H_2O$ verl. H_2O = 12%.

0,3844 gr. gaben 0,0934 $CaCO_3$ = 0,03736 Ca = 9,7%.

Nach starkem Glühen 0,0567 CaO = 0,0405 Ca = 10,5%.

$(C_9H_8NO_3)_2Ca$ verl. Ca = 10,1%.

Um die Constitution der Substanz zu erfahren, liess ich 1 gr. der reinen Säure mit conc. HCl 5 Stunden auf dem Sandbade am Rückflusskühler kochen. Nach dem Abkühlen schieden sich Krystalle ab, grosse, breite, rechteckige Blättchen und Tafeln, die abfiltrirt, nicht ausgewaschen, auf einer Thonplatte abgesogen werden und exsiccatortrocken 0,95 gr. wiegen. Das salzsaure Filtrat davon riecht deutlich nach Essigsäure; es wird mit Wasser stark verdünnt und abdestillirt, das Destillat mit Na_2CO_3 neutralisirt, auf geringes Volumen eingedampft, beim Kochen mit H_2SO_4 und etwas Alkohol entwickelt sich deutlicher Geruch nach Essigäther. Es ist damit das Vorhandensein der Acetylgruppe in der Substanz nach-

gewiesen. Die ausgeschiedenen Krystalle lösen sich leicht in Wasser, geben nach mehrmaligem Abdampfen mit Wasser noch einen dicken Niederschlag von $AgCl$ auf Zusatz von $AgNO_3$, stellen also eine salzsaure Verbindung dar. Ihre Lösung wird mit NH_3 alkalisch gemacht, wobei sich zunächst ein Niederschlag bildet, der sich wieder auflöst, dann mit Essigsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Nach dem Abdestilliren bleiben 0,6 gr. fast farbloser Krystalle, die aus heissem Wasser umkrystallisirt sich in farblosen, zierlichen, büschelförmig angeordneten Nadeln ausscheiden, die bei 174—175° schmelzen, sublimiren und süss schmecken. Alle diese Eigenschaften stimmen genau überein mit denen der m.-Amidobenzoësäure. Aus der Mutterlauge wird mittels $BaCO_3$ ein Ba-Salz dargestellt, das aus der conc. wässerigen Lösung mittels Alkohol und Aether in über Centimeter langen, drusenförmig gruppirten Nadeln gefällt wird.

0,2051 gr., bei 105—110° getr., gaben 0,1826. Verlust = 0,0225 = 10,9 % H_2O.
0,1826 gr. gaben 0,1016 $BaSO_4$ = 0,05974 Ba = 32,7 %.
$(C_7H_6NO_2)_2Ba + 3\,H_2O$ verl. H_2O = 11,6 %.
Ba (des wasserfreien Salzes) = 33,5 %.

Ein Silbersalz wurde aus 0,2 gr. der reinen Substanz durch Fällung ihres NH_3-Salzes mit $AgNO_3$ dargestellt, das sich nach dem Umkrystallisiren in Nadeln ausscheidet.

0,2381 gr., bei 110° getr., wobei es sich etwas dunkel färbt, verlor 0,0158 = 6.6 % H_2O.
0,2223 gaben 0,0982 Ag = 44,2 %.
$C_7H_6NO_2Ag + H_2O$ verl. H_2O = 6,8 %.
Ag (des wasserfreien Salzes) = 44,3 %.

Derselbe Wassergehalt ergab sich auch aus einer vorher gemachten Analyse des nur exsiccatortrockenen Salzes.

0,1554 gr. gaben 0,0643 Ag = 41,4 %.
$C_7H_6NO_2Ag + H_2O$ verl. Ag = 41,2 %.

Schliesslich wurde noch eine N-Bestimmung nach Kjeldahl gemacht.

0,1403 gr. gaben NH_3 entspr. 4 cbcm. 1/4-Normalnatronlauge = 0,0140 N = 9,97 %.
$C_7H_7NO_2$ verl. N = 10,22 %.

Nach der Analyse der Salze, der N-Bestimmung und allen Eigenschaften handelt es sich bei der abgespaltenen Substanz um m.-Amidobenzoësäure.

Der Spaltungsversuch hat also ergeben, dass die nach Fütterung mit m.-Nitrobenzaldehyd im Urin der Kaninchen auftretende schwer lösliche Substanz zerfällt in Essigsäure und m.-Amidobenzoësäure unter Wasseraufnahme:

$$C_9H_9NO_3 + H_2O = C_2H_4O_2 + C_7H_7NO_2,$$

also aufzufassen ist als m.-Acetylamidobenzoësäure, mit deren Eigenschaften die ihrigen auch vollkommen übereinstimmen, nur fand ich ihren Schmelzpunkt nach vielfachem Umkrystallisiren erst bei 248° constant, während er bisher zu 240° angegeben wurde.

Dieser merkwürdige Vorgang der Anlagerung der Acetylgruppe an eine in den Thierkörper eingeführte Subztanz ist ganz analog der Bildung der Furfuracrylsäure aus Furfurol und Essigsäure, nur ist die Stelle der Anlagerung bei beiden eine verschiedene, bei der Furfuracrylsäure ist es die Aldehydgruppe, bei der Acetylamidobenzoësäure die Amidgruppe:

$$C_4H_3O \cdot COH + CH_3 \cdot COOH = C_4H_3O \cdot CH = CH \cdot COOH + H_2O,$$

$$C_6H_4 < {NH_2 \atop COOH} + CH_3 \cdot COOH = C_6H_4 < {NH \cdot CO \cdot CH_3 \atop COOH} + H_2O.$$

Was die Entstehung der Acetylamidobenzoësäure im Thierkörper aus dem Nitrobenzaldehyd anlangt, so ist dieselbe wohl so zu denken, dass zunächst die aus dem Nitrobenzaldehyd entstandene Nitrobenzoësäure in dem langen Kaninchendarm zu Amidobenzoësäure reducirt wird, als solche der Resorption anheimfällt und dann irgendwo in den Organen mit dem Atomcomplex der Essigsäure zusammentrifft, mit dem sie sich dann zur Acetylamidobenzoësäure vereinigt. Damit stünde im Einklang, dass beim Hunde, dessen kurzer Darm nicht die Gelegenheit zur Reduction der Nitro- in die Amidogruppe bietet, diese Synthese nicht eintritt, wenigstens gelang es mir nicht, in dem schon oben erwähnten Versuche mit m.-Nitrobenzaldehyd beim Hunde die Acetylamidobenzoësäure nachzuweisen und auch Sieber und Smirnow erwähnen nichts

von dem Vorhandensein einer solchen Substanz, die sich ja nach ihren Eigenschaften sehr leicht hätte auffinden lassen müssen.

Ich hegte nun die Vermuthung, dass nach Einführung fertiger m.-Amidobenzoësäure die Bildung der Acetylamidobenzoësäure noch leichter sich vollziehen würde. Schon Salkowski[1]) hat Hunde und Kaninchen mit m.-Amidobenzoësäure gefüttert und danach eine Säure gefunden, die sich als Uramidobenzoësäure erwies. Indessen fielen seine N-Bestimmungen zu niedrig aus, was sehr wohl von einer Beimengung der Acetylamidobenzoësäure herrühren konnte. Zur Entscheidung dieser Frage gab ich daher 2 Kaninchen an 4 auf einander folgenden Tagen je 2 gr. der m.-Amidobenzoësäure (von Kahlbaum bezogen, schmolz nach dem Umkrystallisiren bei 173°) als Na-Salz innerlich in viel Wasser gelöst, im Ganzen also 16 gr. Aus den sauren Aetherauszügen schieden sich beim Abdestilliren auf etwa 200 cbcm. 0,7 gr. Krystalle aus, aus der schwefelsauren Lösung noch 3,3 gr., die dieselbe Substanz darstellen. Sie war äusserst schwer löslich in Wasser, krystallisirte aus viel Wasser in baumförmig verzweigten, oder rosettenförmig angeordneten, schmalen, meist 4 seitigen Prismen, die sich aus einzelnen kürzeren Abschnitten zusammensetzten, jedenfalls ganz anders, als die m.-Acetylamidobenzoësäure. Ihr Schmelzpunkt liegt höher, bei 265°, und ihre N-Analysen ergaben Werthe, die mit den für Uramidobenzoësäure berechneten übereinstimmen.

1. 0,2048 gr., bei 105° getr., gaben 0,1864. Verlust = 0,0184 = 8,9 % H_2O. 0,1856 gr. gaben NH_3 entsprechend 7,9 cbcm. 1/4-Normalnatronlauge = 0,02765 N = 14,9 %.
2. 0,2003 gr. gaben bei 105° 0,1829. Verlust = 0,0174 = 8,7 % H_2O. 0,1796 gr. gaben NH_3 entsprechend 7,7 cbcm. 1/4-Normallauge = 0,02695 N = 15,0 %.

Uramidobenzoësäure $C_6H_4{NH \cdot CO \cdot NH_2 \atop COOH} + H_2O$ verl. $H_2O = 9,1\,\%$;

N (der wasserfreien Säure) = 15,5 %.

---

[1]) E. Salkowski, Weitere Beiträge zur Kenntniss der Harnstoffbildung. Das Verhalten der Amidobenzoësäure im Thierkörper, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 7, S. 93.

Acetylamidobenzoësäure konnte ich daneben nicht nachweisen, auch in dem letzten Aetherrückstand nicht, der noch 0,9 gr. unreiner Uramidobenzoësäure ergab. Auf die ausserdem gebildete Amidohippursäure resp. daneben vorhandene Amidobenzoësäure habe ich nicht weiter Rücksicht genommen.

Einen Versuch mit Amidobenzaldehyd, der als Aldehyd vielleicht eher die Synthese mit Essigsäure eingehen dürfte, als die Säure, habe ich noch nicht anstellen können, da derselbe im Handel nicht erhältlich ist und mir die Reindarstellung desselben bisher nicht gelungen ist. Versuche in der Richtung beabsichtige ich noch fortzusetzen und werde dann gegebenen Falles darüber berichten.

b) Orthonitrobenzaldehyd.

In der Annahme, dass auch der o.- und der p.-Nitrobenzaldehyd sich bei Kaninchen ähnlich dem m.-Nitrobenzaldehyd verhalten würden, und um auf diese Weise zugleich eine Bestätigung der mitgetheilten Synthese zu erhalten, gedachte ich nun Fütterung mit diesen beiden Aldehyden vorzunehmen, will aber gleich von vornherein mittheilen, dass sich beide durch ein ganz anderes Verhalten auszeichneten.

Ich gehe zunächst zur Beschreibung der Fütterung mit Orthonitrobenzaldehyd über.

3 Kaninchen erhielten innerhalb 5 Tagen $10^1/_2$ gr. desselben (von Kahlbaum bezogen) in Dosen zu 1 gr., u. zw. im Durchschnitt jeden Uebertag je 1 gr., in wenig Alkohol gelöst und mit viel Wasser nachgespült in den Magen gegossen. Die Thiere kamen zwar sehr herunter, erholten sich aber nach Beendigung der Fütterung wieder. Die Urine zeigten bis auf geringe Reduction, die von etwas gährungsfähigem Zucker herrührte, ohne dass weder Rechts- noch Linksdrehung sicher nachgewiesen werden konnte, nichts Besonderes. Beim Ansäuern der in wenig Wasser gelösten Rückstände der vereinigten alkoholischen Auszüge des immer frisch eingedampften Urins mit verd. H_2SO_4 schied sich nichts aus. Sie wurden 5mal mit grossen Portionen Aether extrahirt. Die Auszüge

zeigten prachtvolle dunkelgrüne, im durchfallenden Lichte gelbe Fluorescenz. Nach dem Abdestilliren derselben bis auf 150 cbcm. schied sich bis zum nächsten Tage nichts aus, ebensowenig bei weiterem Abdestilliren. Der Aether wurde jetzt gänzlich verjagt, der letzte Rest wurde freiwillig im Becherglas an der Luft verdunstet und steht dann 24 Stunden im luftleeren Exsiccator über H_2SO_4 und Paraffin. Der Rückstand bleibt dünnflüssig, es scheidet sich nichts Krystallinisches daraus ab, auch nicht, als er mit Wasser übergossen noch 2mal 24 Stunden stehen blieb. Er wurde darauf in der Kälte mittels Kalkmilch in's Kalksalz verwandelt, wobei nur ein sehr geringer Antheil des Harzes sich nicht löste. Der überschüssige Kalk wurde durch CO_2 entfernt und das noch schwach alkalische Filtrat bis auf etwa 5 cbcm. eingedampft. Das Kalksalz krystallisirte nicht aus, fiel auf Zusatz von Alkohol und Aether in amorphen Flocken aus. Es wurde mit überschüssiger starker HCl versetzt, worauf zuerst ein Oel ausfiel, das nach kurzer Zeit krystallinisch erstarrte; es wurde noch einige Zeit mit der HCl verrieben, dann abfiltrirt und ohne ausgewaschen zu werden auf einer Thonplatte abgesogen und getrocknet. Die Krystalle wiegen 1 gr. Aus ihrer Mutterlauge erhält man durch Ausschütteln mit Aether nur noch Spuren. Die Krystalle lösen sich leicht in kochendem Wasser, scheiden sich beim Abkühlen in etwa 1 cm. langen, prismatischen Nadeln aus, die nach nochmaligem Umkrystallisiren bei 147—149° schmelzen, sublimiren und intensiv süss schmecken. Orthonitrobenzoësäure soll bei 147° schmelzen und obige Eigenschaften zeigen.

Von einem Theil wird ein Ag-Salz gemacht durch Versetzen des NH_3-Salzes mit $AgNO_3$. Es schied sich zunächst aus der Lösung nichts aus, erst nach 8tägigem Stehen im luftverdünnten Exsiccator erhielt ich Krystalle, dicke prismatische Nadeln, deren Mutterlauge beim Ansäuern sofort zu einem Krystallbrei der freien Säure erstarrt. Es scheint danach das Silbersalz leichter löslich zu sein, als die Säure.

0,1240 gr. gaben 0,0482 Ag = 38,9 %.

Nitrobenzoësaures Silber verl. Ag = 39,4 %.

Ich erhielt also zunächst nach der Fütterung mit $10^1/_2$ gr. Orthonitrobenzaldehyd nur etwas über 1 gr. Nitrobenzoësäure, daneben keine Spur einer gepaarten Verbindung. Nun hätte vielleicht die Nitrogruppe reducirt sein können, so dass diese neue Verbindung aus der schwefelsauren Lösung nicht in den Aether überging. Ich machte daher diese mit K_2CO_3 alkalisch — 3 Aetherauszüge dieser alkal. Lösung hinterliessen nur eine minimale Menge einer harzartigen Substanz —, säuerte dann mit Essigsäure an und schüttelte wiederum mehrmals mit Aether aus. Die Auszüge hinterlassen eine noch viel Essigsäure enthaltende Flüssigkeit, aus der dieselbe durch mehrmaliges Abdampfen mit Wasser vollständig verjagt wurde. Es blieb zuletzt ein krystallinisch erstarrender Rückstand, der sich nach einmaligem Umkrystallisiren als einige dgr. reinen Harnstoffs erwies.

Es sind also in der That von dem eingeführten Orthonitrobenzaldehyd ca. 90% im Thierkörper zerstört worden. Es bildet dies eine Analogie zu dem Verhalten vieler Orthoverbindungen ausserhalb des Organismus oxydirenden Einflüssen gegenüber, wobei dieselben leicht vollständig zerstört werden, während die Verbindungen der Meta- und Parareihe sich denselben gegenüber viel resistenter erweisen.

c) Paranitrobenzaldehyd.

Am meisten Interesse gewährten die Versuche mit dem p.-Nitrobenzaldehyd, zu deren Beschreibung ich mich nunmehr wende. Der Aldehyd wurde von mir nach der Richter'schen Vorschrift[1]) dargestellt durch Einwirkung von Chromylchlorid auf p.-Nitrotoluol in einer Lösung von CS_2. Ich erhielt den p.-Nitrobenzaldehyd nach einmaligem Umkrystallisiren aus viel heissem Wasser in zolllangen, spröden Nadeln, die bei 106—110° schmolzen.

Da sich der Aldehyd sowohl in Wasser, als auch in wenig Alkohol nur schwer löst, konnte ich ihn nicht in Lösung in den Magen der Versuchsthiere einführen, sondern musste mich dazu einer Suspension in viel Wasser bedienen. Die

[1]) Berl. Ber., Bd. XIX, S. 1061.

Kaninchen erhielten ihn in Dosen von je 1 gr., jeden Uebertag 1mal, und vertrugen ihn verhältnissmässig gut, magerten zwar sehr ab, erholten sich aber nach dem Aufhören der Fütterung wieder; allerdings gingen einige Thiere noch mehrere Wochen darauf unter allmäliger Entkräftung zu Grunde.

Die Urine wurden in der früher beschriebenen Weise verarbeitet. Die in wenig Wasser aufgenommenen Rückstände der alkoholischen Auszüge erstarrten auf Zusatz der genügenden Menge verd. H_2SO_4 zu einem Krystallbrei, der sich nach 6maligem Ausschütteln mit sehr grossen Portionen Aethers in diesem vollständig löste. Um etwaige verschiedene, darin enthaltene Substanzen von einander zu trennen, wurde der Aether fractionirt abdestillirt. Bei einer Fütterungsreihe mit 21 gr. p.-Nitrobenzaldehyd erhielt ich auf diese Weise folgende Portionen: Beim Abdestilliren auf etwa 500 cbcm. schieden sich Krystalle ab, die nach reichlichem Auswaschen mit Aether 6,9 gr. wogen, bei weiterem Abdestilliren auf etwa 150 cbcm. wieder 6,9 gr., auf 50 cbcm. noch 2 gr., schliesslich wurde der letzte Aether abdestillirt, der Rückstand mit Wasser übergossen mehrere Tage stehen gelassen, die mit Harz vermengten Krystalle abfiltrirt, sie gaben nach einmaligem Umkrystallisiren noch 1 gr.; das erste Filtrat derselben wurde nochmals mit Aether extrahirt, ich erhielt daraus etwas gewöhnliche Hippursäure. Die ersten 4 Abscheidungen erwiesen sich als identisch und bildeten fast quantitativ das Umwandlungsproduct des p.-Nitrobenzaldehyds, zu dessen Beschreibung ich jetzt übergehe:

Die Substanz war mässig schwer löslich in Aether, leicht in kochendem Alkohol, löste sich enorm schwer in kochendem Wasser auf, aus dem sie nach mehrmaligem Umkrystallisiren in reinem Zustande in farblosen Krystallen gewonnen wurde, die unter dem Mikroskop bei etwa 600facher Vergrösserung kugelige Aggregate von einem dichten Gewirr äusserst feiner Nadeln bildeten, die an den Rändern nach allen Seiten in korkzieher-, peitschen- oder schleifenförmigen Krümmungen ausstrahlten. Diese Form änderte sich nach oftmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser nicht mehr und war so charakteristisch, dass

man an ihr das Vorhandensein der Substanz immer sofort erkennen konnte. Für die Reinheit der Substanz bürgte der constante Schmelzpunkt 252—254°, den auch nach mehrmaligem Umkrystallisiren die aus der Mutterlauge zurückgewonnenen Krystalle zeigten, ebenso die aus einem 3mal umkrystallisirten Kalksalz durch Ausfällung mit Essigsäure und nochmaliges Umkrystallisiren dargestellten, die gleichfalls die oben beschriebene Form darboten. In diesem ganz reinen Zustande bildet die Substanz ein lockeres, sehr leichtes Krystallpulver von kalkähnlichem Aussehen, das beim Zerreiben gewissermassen elektrische Eigenschaften zeigte, indem es weit aus der Schale spritzte und an dem Reiber haften blieb wie Eisenfeilspähne am Magneten. Die Substanz sublimirt nur zum Theil, unter Entwickelung starken Geruches nach Essigsäure, so dass also schon hierdurch die Anwesenheit der Acetylgruppe in ihr mit Sicherheit nachgewiesen werden konnte. Sie ist eine Säure, die sich in NH_3 sehr leicht löst und durch Säuren daraus als dicke Gallerte ausgefällt wird. In diesem frisch gefällten Zustande geht sie sehr leicht in Aether über.

Die Analysen, die ich von der oft umkrystallisirten und dann bei 105—110° getrockneten Substanz machte, wobei sie kein H_2O verlor, ergaben folgende Werthe:

1. 0,1576 gr. gaben 11,4 cbcm. N bei t = 9° und Ba = 753 mm.
   N = 0.01358424 = 8,6%.
2. 0,1403 gr. gaben 9,5 cbcm. N bei t = 5° und Ba = 767 mm.
   N = 0,0117306 = 8,4%.
3. 0,1473 gr. gaben 11 cbcm. N bei t = 12° und Ba = 751 mm.
   N = 0,0129008 = 8,7%.
4. 0,1800 gr. gaben 0,0665 H_2O = 0,00741 H, und
   0,3647 CO_2 = 0,09945 C.
   C = 55,3%; H = 4,1%.
5. 0,1885 gr. gaben 0,0717 H_2O = 0,00797 H, und
   0,3831 CO_2 = 0,1045 C.
   C = 55,4%; H = 4,2%.
6. 0,1874 gr. gaben 0,0717 H_2O = 0,007967 H, und
   0,3845 CO_2 = 0,10486 C.
   C = 55,9%; H = 4,3%.
7. 0,1849 gr. gaben 0,0695 H_2O = 0,007722 H, und
   0,3771 CO_2 = 0,1028 C.
   C = 55,6%; H = 4,1%.

Die Analysen ergaben also im Mittel:

$C = 55,55$
$H = 4,17$
$N = 8,56.$

Daraus lässt sich die Formel berechnen $C_{16}H_{14}N_2O_7$, welche verlangt:

$C = 55,4$
$H = 4,0$
$N = 8,1.$

Um einen Einblick in die Constitution der Substanz zu erlangen, machte ich zunächst folgenden Spaltungsversuch:

1 gr. der einmal umkrystallisirten Substanz, Schmelzpunkt 252°, wird mit conc. HCl im zugeschmolzenen Rohre 5 Stunden bei 150° erhitzt. Nach dem Abkühlen haben sich dicke Krystalle abgeschieden, die abfiltrirt werden, 0,35 gr. Sie sind in Wasser äusserst schwer löslich, schmelzen bei 238—240°. Ein Theil davon wird in's Ag-Salz verwandelt durch Fällung des NH_3-Salzes mittels $AgNO_3$. Es bildet lange Nadeln.

0,1472 gr. gaben 0,0580 Ag = 39,4 %.

Es handelt sich also um p.-nitrobenzoësaures Silber, welches verlangt Ag = 39,4 %. p.-Nitrobenzoësäure schmilzt bei 238°.

Das salzsaure Filtrat der ausgeschiedenen Krystalle wird stark mit Wasser verdünnt und die Hälfte abdestillirt. Das Destillat riecht nicht nach Essigsäure, ist nur schwach sauer; es wird mit NH_3 alkalisch gemacht, auf ein kleines Volumen eingedampft, gibt mit $AgNO_3$ einen geringen Niederschlag von AgCl; essigsaures Silber schied sich nicht aus. Der salzsaure Destillationsrückstand wird 3mal mit Wasser auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, es bleibt ein braungefärbter krystallinischer Rückstand, 0,15 gr., der ohne zu schmelzen fast vollständig sublimirt, im Wasser leicht löslich ist, mit KOH gekocht ammoniakalische Dämpfe entwickelt und mit $AgNO_3$ einen dicken Niederschlag von AgCl gibt, es handelte sich also um ein salzsaures Salz. Es wird davon ein Pt-Salz gemacht, wobei sich aber nur ein geringer Niederschlag ausscheidet.

0,0041 gr. gaben 0,0018 Pt = 43,9 %.

$(NH_4Cl)_2PtCl_4$ verl. Pt = 43,8 %.

Das Filtrat von dem Platinsalmiak wurde durch H_2S vom Pt befreit, das Filtrat davon hinterliess nur einen minimalen Rückstand, mit dem ich nichts mehr anfangen konnte. Dieser Spaltungsversuch ergab also ca. 35% Nitrobenzoësäure, eine Spur NH_3, die aber vielleicht auf eine Verunreinigung oder secundäre Abspaltung bezogen werden dürfte, und eine geringe Menge eines dritten Productes, dessen Natur sich nicht feststellen liess. Etwa die Hälfte schien dabei zerstört zu sein.

In einem zweiten Versuche wurden 0,82 gr., die einmal aus viel heissem Wasser umkrystallisirt waren, mit starkem Barytwasser 5 Stunden am Rückflusskühler gekocht; die Lösung färbt sich etwas gelb dabei. Nach dem Kochen wird die Lösung zum Theil abdestillirt, wobei ganz im Beginn ein stark alkal. Destillat in geringer Menge überging, wahrscheinlich wieder Spuren NH_3. Der alkal. Destillationsrückstand wird mit Wasser stark verdünnt, der Ueberschuss des $Ba(OH)_2$ durch CO_2 entfernt und das Filtrat, das in dieser starken Verdünnung schon mit HCl einen krystallinischen Niederschlag, kleine Blättchen und rhomb. Tafeln, gibt, die wie p.-Nitrobenzoësäure aussehen, auf ca. 50 cbcm. eingedampft. Nach dem Ansäuern mit HCl scheiden sich 0,33 gr. Krystalle ab, die bei 238° schmelzen, also p.-Nitrobenzoësäure sind. Das Filtrat davon wird mit Aether extrahirt, man erhält daraus noch ca. 0,01 Nitrobenzoësäure. Aus der salzsauren Lösung wird der Aether verjagt und der Baryt genau mit H_2SO_4 ausgefällt, das Filtrat davon eingedampft. Der krystallinische Rückstand, der noch mit $AgNO_3$ starken Niederschlag von $AgCl$ gibt, in sehr wenig Wasser gelöst, filtrirt und mit Alkohol und Aether versetzt. Es scheidet sich nichts aus. Die weitere Verarbeitung wird aufgegeben.

Um grössere Mengen dieses letzteren Spaltungsproductes zu gewinnen, kochte ich jetzt 2,8 gr. der Substanz mit heissgesättigtem Barytwasser 5 Stunden am Rückflusskühler, verdünnte mit viel Wasser, leitete CO_2 durch, dampfte das neutrale Filtrat auf etwa 30 cbcm. ein und versetzte mit verd. H_2SO_4. Aus dem Niederschlage wurde die darin ent-

haltene Nitrobenzoësäure mit NH_3 ausgezogen und mit HCl gefällt. Ich erhielt 0,35 gr.; von einem Theil wird ein Ag-Salz gemacht; dasselbe bildete nach dem Umkrystallisiren mehrere Millimeter lange, feine, breite Blättchen.

0,1191 gr. gaben 0,0468 Ag = 39,3%.
Nitrobenzoësaures Silber verl. Ag = 39,4%.

Die von dem schwefelsauren Baryt und der Nitrobenzoësäure abfiltrirte Flüssigkeit wird mit $Ba(OH)_2$ alkalisch gemacht, der überschüssige Baryt durch CO_2 entfernt und das Filtrat eingedampft. Es reagirt schwach alkalisch, gibt noch Niederschläge mit H_2SO_4 und Na_2CO_3; es handelt sich also wahrscheinlich um ein Barytsalz einer Amidosäure, die, wie oben beschrieben, auch ein salzsaures Salz gibt. Der Trockenrückstand bildet eine nicht krystallinische lackartige Masse. Sie wird wieder in wenig Wasser gelöst und der Baryt mit ganz verdünnter H_2SO_4 genau ausgefällt, das Filtrat dann wieder zur Trockne verdampft. Es bleibt nur ein sehr geringer, etwas harziger Rückstand, der zu einer weiteren Untersuchung nicht mehr ausreichte.

Auch bei diesen beiden Versuchen war es mir also nicht gelungen, das zweite Spaltungsproduct, das neben der Nitrobenzoësäure auftrat, zu isoliren, es schien sich nach Allem um eine leicht zersetzliche Amidosäure zu handeln.

Bisher war durch die Spaltungsversuche also nur das Vorhandensein der Nitrobenzoësäure in der Substanz sicher nachgewiesen. Ich schlug nun einen anderen Weg ein, indem ich den Versuch machte, ein Reductionsproduct darzustellen, um aus diesem dann Schlüsse auf die Constitution des Körpers machen zu können. Zu diesem Zwecke bediente ich mich einer von Claisen und Thompson speciell für die Umwandlung von Nitrosäuren angegebenen Methode[1]).

2 gr. der noch nicht ganz reinen Substanz vom Schmelzpunkt 247° wurden in Barytwasser in der Wärme bis zur schwach alkal. Reaction gelöst, dann die für die Umwandlung einer Nitrogruppe berechnete Menge Eisenvitriol (ca. 25 gr.)

---

[1]) Lassar-Cohn, Arbeitsmethoden, S. 263.

in Wasser gelöst noch warm zugefügt, Barytwasser bis zur schwach alkal. Reaction zugesetzt und auf dem Wasserbade 4 Stunden erwärmt. Darauf wurde filtrirt und das Filtrat nach Entfernung des sehr geringen Ueberschusses von Baryt durch CO_2 bis ca. 30 cbcm. eingedampft, mit Essigsäure angesäuert, mehrmals mit Aether extrahirt und die Auszüge abdestillirt. Der krystallinische Rückstand ist schwach gelbbraun gefärbt, wiegt 1,6 gr., wird aus kochendem Wasser, worin sich ein Theil leicht, ein anderer sehr schwer zu lösen scheint, unter Entfärbung mit etwas Thierkohle, umkrystallisirt. Bei schneller Abkühlung scheiden sich 0,5 gr. kleine Nadeln und Blättchen aus. Sie werden nochmals aus Wasser umkrystallisirt, lösen sich sehr schwer darin auf und scheiden sich in zarten, fast 1 cm. langen Nadeln aus. Nach nochmaligem Umkrystallisiren schmelzen sie bei 251°, sublimiren in wolkigen Flocken mit Hinterlassung eines geringen Rückstandes und entwickeln dabei starken Geruch nach Essigsäure. Sie sind noch gelblich gefärbt, wiegen jetzt 0,23 gr. In ihren Eigenschaften stimmt die Substanz genau überein mit p.-Acetylamidobenzoësäure, was durch eine N-Bestimmung nach Kjeldahl und einen Spaltungsversuch bestätigt wurde.

0,1996 gr. (bei 105° getr.) gaben NH_3 entsprechend 4,6 cbcm. $^1/_4$-Normalnatronlauge = 0,1610 N = 8,06 %.

Acetylamidobenzoësäure verl. N = 7,8 %.

Der nach dieser Bestimmung noch verbleibende Rest der Substanz, ca. 0,01—0,02, wird mit HCl in einem Reagensglas 20 Minuten gekocht, beim Abkühlen scheiden sich Krystalle ab u. zw. dicke, kurze, 4- und 6eckige Säulen und Tafeln; nach Uebersättigung mit NH_3 und Ansäuerung mit Essigsäure wird mit Aether extrahirt, der nach dem Verdunsten schwach gelblich gefärbte Krystalle zurücklässt, die bei 186—187° schmelzen. p.-Amidobenzoësäure schmilzt bei 186°.

Die vereinigten Mutterlaugen der hiermit nachgewiesenen p.-Acetylamidobenzoësäure, die noch eine leichter lösliche Verbindung zu enthalten schienen, werden kalt mit Kalkmilch versetzt, CO_2 durchgeleitet, aufgekocht, das neutrale Filtrat

auf ein kleines Volumen eingedampft, mit Essigsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Nach dem Abdestilliren bleiben 0,5 gr. Krystalle, die nach zweimaligem Umkrystallisiren aus wenig Wasser in langen, zarten, spröden Nadeln sich ausscheiden, bei 185—186° schmelzen, und deren Mutterlaugen den für p.-Amidobenzoësäure charakteristischen Niederschlag mit essigsaurem Blei geben.

N-Bestimmung nach Kjeldahl.

0,0897 gr. (bei 105° getr.) gaben NH_3 entsprechend 3 cbcm. $^1/_4$-Normalnatronlauge = 0,0105 N = 10,2%.

Amidobenzoësäure verl. N = 10,2%.

Danach zerfällt also die Substanz bei der Reduction zweifellos in anscheinend gleiche Theile p.-Acetylamidobenzoësäure und p.-Amidobenzoësäure.

Schliesslich machte ich nochmals einen Spaltungsversuch, indem ich 1,5 gr. der Substanz mit starker Salzsäure 4 Stunden am Rückflusskühler kochte; die Lösung färbte sich dabei dunkelbraun und schied nach dem Abkühlen eine Menge braunschwarz gefärbter Krystalle ab. Nach starker Verdünnung mit Wasser wurde von diesen, die 0,67 gr. wogen und sich wiederum als p.-Nitrobenzoësäure erwiesen, abfiltrirt und das hellgelbe Filtrat auf dem Wasserbade 3mal mit Wasser zur Entfernung der HCl zur Trockne verdampft. Es bleiben jetzt Krystalle zurück, die 0,8 gr. wiegen, in Wasser ziemlich leicht löslich sind, zum Theil sublimiren, mit KOH eine Spur NH_3 entwickeln und mit $AgNO_3$ einen dicken Niederschlag von AgCl geben, also ein salzsaures Salz darstellen. Sie werden in Wasser gelöst, mit Thierkohle entfärbt, der Trockenrückstand wiegt noch fast 0,5 gr. Er wird jetzt in wenig Wasser gelöst, von einer Spur Nitrobenzoësäure abfiltrirt, mit NH_3 alkalisch gemacht, mit Essigsäure angesäuert und mit Aether extrahirt: aus diesem erhält man nach dem Abdestilliren Krystalle, die sich an der Luft etwas kirschroth färben, vollständig sublimiren und bei 187° schmelzen. Aus wenig Wasser umkrystallisirt bilden sie farblose, stark verfilzte Nadeln, aus sehr verdünnter Lösung haarfeine, über 1 cm. lange, stark

gekrümmte, spröde Nadeln, die in diesem reinen Zustande bei 191—192° schmelzen. Sie sind in heissem Wasser leicht, in kaltem ziemlich schwer löslich. Ihre Mutterlauge gibt mit essigsaurem Blei den für p.-Amidobenzoësäure charakteristischen Niederschlag.

N-Bestimmung nach Kjeldahl.

0,1450 gr. (bei 105° getr.) gaben NH_3 entsprechend 4,3 cbcm. $^1/_4$-Normalnatronlauge = 0,01505 N = 10,4%.

Amidobenzoësäure verl. N = 10,2%.

Bei dieser Spaltung zerfiel also die Substanz in annähernd gleiche Theile p.-Nitrobenzoësäure und p.-Amidobenzoësäure. Auf die Essigsäure, die sich gleichfalls abgespalten haben musste, wurde nicht weiter Rücksicht genommen.

Fasse ich die Resultate, die das Studium der nach Fütterung mit p.-Nitrobenzaldehyd aus dem Kaninchenharn gewonnenen Substanz mir ergeben hat, zusammen, so führen sie für dieselbe zu der Formel:

$$C_6H_4 \left\langle \begin{matrix} N < \begin{matrix} CO \cdot C_6H_4 \cdot NO_2 \\ CO \cdot CH_3 \end{matrix} \\ COOH \end{matrix} \right.$$

d. h. Acetyl-p.-Nitrobenzoyl-p.-Amidobenzoësäure. Bei der Spaltung durch Kochen mit HCl muss dieselbe in Nitrobenzoësäure, Amidobenzoësäure und Essigsäure zerfallen, während sie bei der Reduction Amidobenzoylacetylamidobenzoësäure gibt, die dann secundär in Amidobenzoësäure und Acetylamidobenzoësäure zerfällt.

Die Summenformel dieser Verbindung ergibt allerdings nur $C_{16}H_{12}N_2O_6$, während sich aus den Analysen die Formel $C_{16}H_{14}N_2O_7$ berechnen liess. Die Differenz ist also H_2O. Da die Substanz bei 105—110° kein Wasser verlor, so hatte ich sie zunächst für wasserfrei angesehen und auch alle Analysen von der bei 105° getrockneten Substanz gemacht. Um daher zu entscheiden, ob dieselbe bei höherer Temperatur Wasser verliert, erhitzte ich ca. 0,5 gr. bei 105°. Nach 6 Tagen hatte sie schon 10,6% verloren, ohne constant geworden zu sein, während $C_{16}H_{12}N_2O_6 + H_2O$ 5,2% H_2O verlangt.

Es stellte sich dabei heraus, dass die Substanz bei 150° etwas flüchtig ist, denn eine geringe Menge derselben hatte sich, auf einem Uhrschälchen der Temperatur von 150° ausgesetzt, nach 5 Stunden bereits vollständig verflüchtigt. Es liess sich also auf diese Art nicht entscheiden, ob die Substanz Krystallwasser enthält.

Danach bliebe mir also nichts weiter übrig, als anzunehmen, dass das eine Molecül H_2O in irgend einer Weise fest gebunden in dem Molecül steckt, und zwar könnte man sich die Bindung in folgender, allerdings etwas gezwungener Weise denken:

$$C_6H_4 \langle \begin{array}{l} N < \begin{array}{l} CO \cdot C_6H_4 \cdot NO_2 \\ CO \cdot CH_3 \end{array} \\ COOH \end{array} + H_2O$$

$$= C_6H_4 \langle \begin{array}{l} N \langle \begin{array}{l} C \cdot OH \cdot C_6H_4 \cdot NO_2 \\ \quad > O \\ C \cdot OH \cdot CH_3 \end{array} \\ COOH \end{array}$$

Es stünden damit in gewissem Einklang die Resultate, die ich bei der Analyse des Silber- und des Kalksalzes erhielt.

Das Silbersalz wurde dargestellt durch Fällung des NH_3-Salzes mit $AgNO_3$. Es schied sich zuerst als dicke Gallerte aus, die mikroskopisch aus feinsten Nädelchen bestand; nach einmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser, in dem es sich sehr schwer löste, krystallisirte es in langen, schmalen Blättchen, die sich rosettenförmig anordneten.

1. 0,0763 gr. (bei 105° getr., wobei es an Gewicht nicht abnahm) gaben 0,0296 Ag = 38,7%.
2. 0,1692 gr. (6 Stunden bei 130° getr., wobei es nur 0,0009 abgenommen hatte) gaben 0,0649 Ag = 38,3%.
3. 0,1292 gr. (bei 105° getr.) gaben 0,0493 Ag = 38,2%.

Das Kalksalz wurde gewonnen durch Lösen der Substanz in viel heissem Wasser, Versetzen mit Kalkmilch bis zur schwach alkalischen Reaction, Einleiten von CO_2, Aufkochen; das Filtrat wurde auf kleines Volumen eingedampft, mit Thierkohle entfärbt und weiter eingedampft; es erstarrt dabei zu einem Krystallbrei, der aus feinen Nadeln besteht. Dieselben wurden

noch 2mal aus Wasser umkrystallisirt. Das Salz verlor nach 14tägigem Stehen im Exsiccator das Krystallwasser bis auf einen ganz geringen Rest, wurde schliesslich bei 110° getrocknet.

1. 0,2472 gr., mit $(NH_4)_2CO_3$ ausgefällt, gaben nach starkem Glühen 0,0366 CaO = 0,02614 Ca.
   Ca = 10,6 %.
2. 0,1685 gr. gaben 0,0580 $CaSO_4$ = 0,01706 Ca.
   Ca = 10,1 %.

Nun verlangt die Formel $C_{16}H_{14}N_2O_7$, wenn ich die Säure, da sie nur eine Carboxylgruppe enthält, als einbasisch annehme, für das Silbersalz Ag = 23,8 % und für das Calciumsalz Ca = 5,5 %, während sie, wenn sie zweibasischer Natur wäre, für das Silbersalz Ag = 38,6 % und für das Calciumsalz Ca = 10,4 % verlangen würde, womit allerdings das Resultat der obigen Analysen gut übereinstimmen würde. Man müsste dann annehmen, dass das zweite, durch Metall vertretbare H-Atom die eine der beiden HO-Gruppen enthielte. Zwar müsste in diesem Falle das eine Ca-Atom 2 H vertreten, die zu einander in der Parastellung stehen, aber immerhin wäre wohl diese Lösung, wenn auch nicht sehr befriedigend, doch die einzig mögliche.

Nun war es aber auffallend, dass eine Moleculargewichtsbestimmung, die ich nach der Raoult'schen Methode anstellte, nur das halbe Moleculargewicht ergab.

Angewandt wurde 13,5590 synthet. Phenol, 0,1449 gr. Substanz, also Procentgehalt 1,07.

Erstarrungspunkte des reinen Phenols:

$$\left.\begin{matrix}0{,}05\\0{,}04\\0{,}03\end{matrix}\right\}\text{ Mittel }0{,}04^{\circ}.$$

Erstarrungspunkte der Mischung:

$$\left.\begin{matrix}1{,}58\\1{,}61\end{matrix}\right\}\text{ Mittel }1{,}595^{\circ}.$$

Differenz 0,445°.

Daraus berechnet sich nach der Formel $M = \frac{c \cdot p}{t}$ M = 182.

Die Formel $C_{16}H_{14}N_2O_7$ verl. M = 346, also annähernd das Doppelte.

Die aus dem Phenol zurückgewonnenen Krystalle zeigten wieder die charakteristische Form und schmolzen bei 254°, die Substanz war also unzersetzt wiedererhalten worden.

Dasselbe Resultat ergab eine Moleculargewichtsbestimmung nach der Beckmann'schen Methode:

Angewandt wurden: Alkohol absol. 49,2 gr., Substanz 0,5623 gr.

Siedepunkt des Alkohols lag bei 1,286°, Siedepunkt von Alkohol und Substanz bei 1,356°.

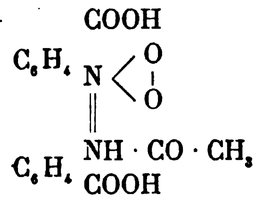
Die Erhöhung betrug also 0,07°.

Daraus berechnet sich nach der Formel $M = 100 \cdot Ks \frac{g}{G(t_1 - t)}$
M = 187.

Eine Lösung dieser Widersprüche und eine definitive Aufklärung über die Constitution der Substanz erhielt ich jedoch mit einem Schlage, als ich den Versuch machte, dieselbe auf synthetischem Wege darzustellen. Es gelang mir auf sehr einfache Weise dadurch, dass ich annähernd gleiche Theile p.-Nitrobenzoësäure und p.-Acetylamidobenzoësäure in der genügend grossen Menge heissen Wassers löste, beim langsamen Abkühlen schied sich die in Rede stehende Substanz in reinem Zustande und schönster Ausbildung der Krystalle sofort aus. Beimengungen von freier Nitrobenzoësäure oder Acetylamidobenzoësäure, die an der ganz differenten Gestalt der Krystalle im mikroskopischen Bilde mit Leichtigkeit hätten erkannt werden können, waren nicht nachweisbar, ausserdem fiel auch die neue Verbindung fast quantitativ wieder aus; aus je 1 gr. der Nitrobenzoësäure und Acetylamidobenzoësäure erhielt ich 1,75 gr. der Verbindung, so dass nur 0,25 gr. in den 370 cbcm. Wasser, die ich zur Lösung brauchte, zurückgehalten wurden. Es entspricht das ungefähr einer Löslichkeit von 1 : 1500.

Es erscheint mir nach Allem zweifellos, dass wir es hier mit einer chemischen Verbindung gleicher Theile p.-Nitrobenzoësäure und p.-Acetylamidobenzoësäure zu thun haben, welche, da sie ohne Wasseraustritt zu Stande gekommen und eine zweibasische Säure ist, nur derart gedacht werden kann,

dass die beiden Paarlinge mit ihren N-Atomen zusammenhängen, wobei wir natürlich den N als 5werthig annehmen müssen.



In anderer Weise kann ich das Resultat der Analysen mit dem chemischen Verhalten der Substanz nicht in Uebereinstimmung bringen. Gegen den Einwand, es handle sich überhaupt gar nicht um eine chemische Verbindung, sondern um ein einfaches Gemenge der beiden Substanzen, sprechen folgende Thatsachen:

1. Es gelingt auf keine Weise, weder durch vielfaches Umkrystallisiren der Substanz selbst, noch ihrer Salze, den Charakter der Substanz zu ändern, was bei einem blossen Gemenge nicht gut möglich wäre, besonders da der eine Paarling, die Nitrobenzoësäure, sehr viel schwerer löslich ist, als der andere, die Acetylamidobenzoësäure, und auch als die Substanz selbst. Z. B. wurde ein Kalksalz 3mal umkrystallisirt, die Säure daraus durch Essigsäure frei gemacht und nochmals umkrystallisirt, ich erhielt wiederum die Substanz in ihren charakteristischen Eigenschaften, deren Analyse für obige Formel gut stimmende Werthe ergab.

2. machte ich folgenden Versuch: Ich löste einerseits 0,1 Nitrobenzoësäure zusammen mit 0,2 Acetylamidobenzoësäure in der genügenden Menge heissen Wassers, andererseits 0,2 Nitrobenzoësäure und 0,1 Acetylamidobenzoësäure desgleichen; in beiden Fällen schied sich die Verbindung beider wie sonst aus, aber im ersten Falle reichlich vermengt mit Krystallen der Nitrobenzoësäure, die im mikroskopischen Bild dicke, viereckige Platten bildeten neben den charakteristischen zierlichen Krystallen der Verbindung, im zweiten Falle ganz rein ohne Beimengung, dagegen konnte ich aus dem Filtrat 0,06 gr. reiner Acetylamidobenzoësäure nach einmaligem Um-

krystallisiren des Aetherauszuges wieder gewinnen, was wohl, die unvermeidlichen Verluste in Anrechnung gebracht, dem ganzen Ueberschuss entsprechen dürfte. In beiden Fällen hatte sich also die Verbindung gebildet, während die überschüssig zugegesetzten Säuren als solche frei nachgewiesen werden konnten.

3. Handelte es sich blos um ein Gemenge, so musste es gelingen, dasselbe durch fractionirte Fällung in Form eines Salzes in seine Bestandtheile zu zerlegen. Ich benutzte hierzu das Silbersalz.

1,5 gr. der aus dem Kaninchenharne gewonnenen Substanz und 1,75 gr. der synthetisch dargestellten verwandelte ich in das NH_3-Salz und fällte es in je 3 Portionen mit titrirter Silberlösung. Die ausgeschiedenen Silbersalze wurden nach gründlichem Auswaschen nochmals aus heissem Wasser umkrystallisirt, schieden sich in allen 6 Fällen übereinstimmend als lange, feine Nadeln aus, die zu kugelförmigen Aggregaten angeordnet waren.

Die Analysen derselben ergaben:

a) Substanz aus dem Kaninchenharn.

Fällung I:	0,3489 gr.	gaben	0,1325	Ag	=	37,98 %.
» II:	0,3387 »	»	0,1282	»	=	37,85 »
» III:	0,0826 »	»	0,0314	»	=	38,0 »

b) Synthetische Substanz.

Fällung I:	0,3982 gr.	gaben	0,1510	Ag	=	37,7 %.
» II:	0,2775 »	»	0,1055	»	=	38,0 »
» III:	0,0968 »	»	0,0365	»	=	37,7 »

Die Substanz verlangt Ag = 38,6 %.

Weshalb in allen Fällen etwas zu wenig Ag gefunden wurde, so dass die Zahlen auch für Acetylamidobenzoësäure stimmen würden, vermag ich nicht zu sagen, jedenfalls stimmen alle 6 Analysen unter einander überein und dann, was wohl beweisend sein dürfte, liess sich aus den Silbersalzen durch Umsetzung derselben mit Na_2CO_3 und Ansäuern des Filtrates mit Essigsäure stets nur die charakteristische Substanz ohne Spur einer Beimengung von Nitrobenzoësäure oder Acetylamidobenzoësäure wieder gewinnen, desgleichen aus allen

Waschwassern und allen Mutterlaugen der umkrystallisirten Silbersalze.

Es bedarf hiernach wohl keines weiteren Beweises, dass wir es hier mit einer chemischen Verbindung zu thun haben, so merkwürdig und meines Wissens ohne Analogie dastehend dieselbe auch ist, denn z. B. der salpetersaure Harnstoff, den man zum Vergleiche heranziehen könnte, unterscheidet sich dadurch, dass bei seiner Umwandlung in Salze der Harnstoff abgespalten und die Verbindung also zerlegt wird, während unsere Substanz dabei eine ganz beständige zweibasische Säure ist. Dass die Moleculargewichtsbestimmung nur das halbe Gewicht ergab, dürfte wohl durch ein ähnliches Verhalten erklärt werden können, wie es nach den Anschütz'schen Untersuchungen der Diacetyltraubensäuredimethyläther und der Diacetylrechtsweinsäuredimethyläther zeigen[1]).

Der Vorgang im Thierkörper, dem die Substanz ihre Entstehung verdankt, ist so aufzufassen, dass ein Theil des eingeführten p.-Nitrobenzaldehyds ebenso wie der m.-Nitrobenzaldehyd in die Acetylamidobenzoësäure umgewandelt wird und mit noch vorhandener p.-Nitrobenzoësäure die Paarung eingeht. Das Primäre und Bestimmende ist demnach auch hier die Synthese mit Essigsäure.

Ich habe in der obigen Mittheilung den Nachweis erbracht, dass Synthesen mit Essigsäure im Thierkörper eine grosse Rolle spielen, dass also die Essigsäure bei den Umsetzungen, die sich im Organismus vollziehen, in grösserer Häufigkeit in die Erscheinung tritt und sich gewöhnlich nur wegen ihrer leichten Oxydirbarkeit schwer auffinden lässt. Es steht damit im Einklang, dass unter pathologischen Verhältnissen, bei denen die Oxydationskraft des Organismus eine verminderte ist, z. B. beim diabetes mellitus, leicht Derivate der Essigsäure in den Urin übergehen. Von Synthesen mit Essigsäure ist bisher, so weit mir bekannt, nur eine einzige beobachtet u. zw. als nebensächlicher Befund bei der Bildung der Mercaptursäuren nach Fütterung mit Brombenzol etc., bei

[1]) Richard Anschütz, Annalen, Bd. 247, S. 111, u. Bd. 253, S. 343.

denen neben der eigentlichen Synthese noch eine Anlagerung der Acetylgruppe in einer Seitenkette stattfindet. Schliesslich möchte ich aber noch darauf hinweisen, dass auch die Bildung des Glycocolls vielleicht in einem anderen Lichte erscheinen dürfte. Während man jetzt allgemein annimmt, dass dasselbe einer directen Abspaltung aus Leim resp. Eiweiss seine Entstehung verdankt, dürfte nach den obigen Auseinandersetzungen wohl der Gedanke nicht von der Hand zu weisen sein, dass es sich einfach durch Paarung des überall reichlich vorhandenen NH_3 mit der ebenfalls leicht auftretenden Essigsäure unter Wasseraustritt bildet.

Beiträge zur Kenntniss der Einwirkung von Phosphor und von arseniger Säure auf den thierischen Organismus.

Von

T. Araki.

(Der Redaction zugegangen am 30. Mai 1892.)

Durch die in drei Mittheilungen[1]) geschilderten Untersuchungen über die Wirkungen des Sauerstoffmangels auf den Gehalt des Harns an Eiweiss, Zucker und Milchsäure ist von mir der Nachweis erbracht, dass so weit als diese Untersuchungen reichen, der Uebertritt dieser Substanzen in den Harn als eine Folge des Sauerstoffmangels erscheint, gleichgiltig ob in der einen oder anderen Weise der Sauerstoffmangel herbeigeführt war. Dass bei der Phosphorvergiftung Ausscheidung von Milchsäure und von Eiweiss im Harne eintreten kann, ist durch ältere und neuere Beobachtungen festgestellt. Wenn nun auch bei dieser Vergiftung eine Reihe ziemlich constanter Veränderungen, die besonders die Leber betreffen, als recht specifische Einwirkungen des Giftes gefunden sind, schien es doch von Interesse, nach dieser Seite hin zu untersuchen, ob die Ausscheidung von Eiweiss und Milchsäure auch hier als eine Folge des Sauerstoffmangels anzusehen ist, oder ob andere Ursachen bei dieser Vergiftung zur Wirkung kommen. Ein einheitliches Bild der Einwirkung des Phosphors kann bis jetzt noch nicht entworfen werden, mindestens drei verschiedene Wirkungen treten ohne genügenden erkennbaren Zusammenhang neben einander oder vielmehr nach einander

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 335 u. 546, Bd. 16, S. 453.

auf, nämlich 1. stärkere oder schwächere Lähmung des Herzens, 2. die Lebererkrankung (Fettinfiltration, Icterus), 3. die Einwirkung auf die Knochen. Die Zerstörung der Blutkörperchen, offenbar im Zusammenhange mit dem Erscheinen des Icterus, ist in ihren Ursachen unbekannt. Die Ausscheidung der Milchsäure hat man versucht, mit der Lebererkrankung im Zusammenhang aufzufassen. Der Phosphor vom Unterhautbindegewebe oder vom Darme her aufgenommen wird durch das Blut als Dampf den verschiedenen Organen zugetragen; eine directe Einwirkung auf das Blut ist nicht beobachtet.

Da der Gedanke nahe liegt, dass eine Aenderung der Bestandtheile des Blutes durch den Phosphordampf doch herbeigeführt werden könne, habe ich zunächst einige Versuche bezüglich des Verhaltens der rothen Blutkörperchen gegen Phosphor angestellt.

Am 25. Mai 1891, 1 Uhr, wurden einige Stückchen in eine mit verdünnter wässeriger Blutlösung gefüllte Flasche gebracht und unter Abschluss der Luft in einer Temperatur von 38—40° gehalten. Zur Controle wurde gleichzeitig eine andere Flasche mit der gleichen Blutlösung gefüllt und ohne Phosphorzusatz bei der gleichen Temperatur gelassen. Die beiden Flaschen wurden von Zeit zu Zeit mit dem Spectroskope untersucht, ob die Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins noch sichtbar waren. 4 Uhr 20 Min. wurde die Blutlösung in der zweiten Flasche dunkel und es tand sich jetzt nur ein breiter Absorptionsstreif im Spectrum, während die Lösung in der ersten Flasche noch schöne hellrothe Färbung und die zwei Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins zeigte. 6 Uhr 20 Min. nahm die Blutlösung in der ersten Flasche erst eine dunkelpurpurrothe Färbung an und es vereinigten sich die zwei Absorptionsstreifen zu einem breiten Streifen.

Aus diesem Versuche geht hervor, dass die rothen Blutkörperchen den locker gebundenen Sauerstoff durch Fäulniss langsamer bei Gegenwart als bei Abwesenheit von Phosphor verlieren.

Nun war es denkbar, dass die rothen Blutkörperchen ihre Fähigkeit einbüssen, Sauerstoff einerseits locker zu binden

und andererseits leicht abzugeben, wenn sie mit Phosphor behandelt werden.

Eine Portion frisches defibrinirtes Rindsblut wurde mit einigen Phosphorstückchen und Luft geschüttelt, stehen gelassen und wieder geschüttelt, dann in den Recipienten der Quecksilberpumpe nach völligem Evacuiren desselben einfliessen gelassen. Das Blut wurde sofort venös gefärbt und gab ebenso leicht und reichlich den locker gebundenen Sauerstoff ab, als bei Abwesenheit von Phosphor.

Auch hinsichtlich des Verhaltens zu Wasserstoffhyperoxyd zeigte defibrinirtes Blut bei Gegenwart von Phosphor keine Aenderung. Das Wasserstoffhyperoxyd wird unter Entwickelung indifferenten Sauerstoffs zersetzt, während die rothen Blutkörperchen unverändert bleiben.

Eine bestimmte Einwirkung des Phosphordampfes auf die rothen Blutkörperchen und ihr Verhalten gegen Sauerstoff wurde sonach nicht gefunden.

Ueber die Ansichten verschiedener Autoren[1]) betreffend eine Ozonbildung im Blute oder in den Organen durch den Phosphor kann wohl hier um so leichter hinweggegangen werden, als keine Beobachtungen vorliegen, die für die Bildung von Ozon sprächen. Jedenfalls müsste durch Ozon Methämoglobin im Blute gebildet werden, dies ist in Wirklichkeit nicht der Fall. Blut von Thieren, welche mit Phosphor vergiftet sind, kann im Dunkeln leuchten und hierdurch die Anwesenheit des Phosphordampfes erkennen lassen, ohne dass die geringste Spur von Methämoglobin zu finden ist.

Von besonderer Wichtigkeit für das Verständniss der Phosphorvergiftung scheinen die Beobachtungen von Storch, Bauer, Fränkel, Cazeneuve, aus denen hervorgeht, dass bei dieser Vergiftung die Stickstoff-, Schwefelsäure- und Phosphorsäureausscheidung im Harne steigt und zugleich die Sauerstoffaufnahme der Thiere für die Zeiteinheit sinkt. Es sind dies bekanntlich die Erscheinungen des Sauerstoffmangels. Hinsichtlich der Ursachen eines solchen Sauerstoffmangels sind

[1]) Schultzen, Riess u. Gubler, Annalen d. Charité-Krankenhauses, Bd. XV; Bullet. gén. de thérapeut., 1873, Livr. 9 et 10.

die Angaben von Storch, Bauer, Fränkel und Röhmann und die Resultate der Untersuchungen von H. Meyer von Interesse. Die ersteren bezeugen eine erst langsamere, dann stärkere Zersetzung der Blutkörperchen, die letzteren eine schwächere oder stärkere Lähmung der Herzaction als Wirkung des Phosphors.

Mangel an Sauerstoff konnte nun auf Grundlage der bezeichneten Untersuchungen hervorgerufen sein 1. durch Lähmung oder Schwächung der Herzthätigkeit; 2. durch starke Verminderung der rothen Blutkörperchen; 3. durch Aufhebung oder Verminderung einer der Leber vindicirten Fähigkeit, bestimmte Oxydationsprocesse auszuführen.

Um über Zusammengehörigkeit und causale Verkettung der einzelnen Stoffwechseländerungen ein weiteres Urtheil zu gewinnen, habe ich die folgenden Versuche ausgeführt. Zu diesen Versuchen wurden gut ernährte Kaninchen und Hunde verwendet. Der Phosphor wurde nach der Vorschrift von H. Meyer 1 Theil in 100 Theilen Olivenöl aufgelöst und den Versuchsthieren unter die Haut gebracht.

I. Versuche an Kaninchen.

1. Versuch. 20. Mai 1891.

Einem Kaninchen wurde 0,01 gr. Phosphor in Oelemulsion unter die Haut gebracht. Nach der Injection zeigte es zunächst nichts Abnormes. Am folgenden Tage erhielt es wieder 0,01 gr. Phosphor subcutan. 24 Stunden nach der zweiten Injection wurde es todt gefunden. Der Urin wurde immer auf Eiweiss, Zucker, Milchsäure und Leucin und Tyrosin untersucht.

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Milchsaures Zink.
21. Mai	71 cbcm.	alkalisch	fehlt	fehlt
22. »	88 »	»	»	0,37 gr.

2. Versuch. 24. Mai 1891.

Ein Kaninchen bekam 0,02 gr. Phosphor subcutan eingespritzt. Nach der Injection schien es ganz normal. Am

anderen Morgen war es todt. Aus der Blase wurden 73 cbcm. Urin gewonnen. Der Urin reagirte neutral, enthielt ein wenig Eiweiss. Aus dem Aetherextracte wurden 0,226 gr. milchsaures Zink dargestellt. Leucin und Tyrosin waren nicht mit Sicherheit nachgewiesen.

Wie die oben erwähnten Versuche zeigen, ist es mir niemals gelungen, Spuren von Zucker im Harne nachzuweisen, während Milchsäure vorhanden war.

Wenn anzunehmen ist, dass, wie Schultzen und Riess sagen, in Folge der Phosphorvergiftung die Glycogen- und Zuckerbildung im Organismus aufhört, so muss auch der Harn von einem mit Phosphor vergifteten Thiere immer zuckerfrei bleiben, selbst wenn es mit CO vergiftet wird. Dies veranlasst mich, einen besonderen Versuch auszuführen.

3. Versuch. 27. Mai 1891.

Ein Kaninchen erhielt 0,01 gr. Phosphor unter die Haut eingespritzt. Am folgenden Tage wurde das Thier mit CO-Gas vergiftet, starb aber schon bald in Folge der Einathmung dieses Gases.

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
27. Mai	82 cbcm.	alkalisch	fehlt	fehlt	fehlt
28. »	42 »	»	vorhanden	»	0,17 gr.

4. Versuch. 31. October 1891.

Einem grossen Kaninchen wurde eine kleine Portion Blut aus einem Gefässe des Ohres entnommen, um den Hämoglobingehalt zu bestimmen; dann wurde 0,03 gr. Phosphor unter die Haut gebracht. Am 1. November befand das Thier sich ganz wohl und frass mit gutem Appetite.

Der gelassene Urin ergab alkalische Reaction, enthielt keine Spur von Zucker und Eiweiss und gab Gmelin's Bilirubinreaction nicht. In dem Aetherextracte fand sich keine Milchsäure. Am 2. November wurde das Thier todt gefunden. 82 cbcm. Urin, der aus der Blase entleert war, reagirte sauer, enthielt gar keinen Zucker, wohl aber Eiweiss in bedeutender

Menge. Aus dem Aetherextracte wurden 0,301 gr. milchsaures Zink dargestellt.

Section. Bei Eröffnung der Bauchhöhle wurde starker Phosphorgeruch wahrgenommen. Starke Verfettung der Leber. Nieren und Milz sehr hyperämisch, aber sonst normal. Das Blut im Herzen war vollkommen geronnen. Am Fundus des Magens fand sich ein kleines Geschwür. Dünndarm leer, blass, starke Gefässinjection. Dickdarm, Colon descendens mit eingedickten Fäcalmassen gefüllt.

5. Versuch. 2. November 1891.

Um 10 Uhr Vorm. wurde einem Kaninchen eine kleine Portion Blut entzogen und gleich 0,03 gr. Phosphor in Oelemulsion unter die Haut eingespritzt. Nach der Einspritzung befand sich das Thier ganz wohl und frass gut. Am 3. November lieferte es 117 cbcm. Urin, der alkalisch reagirte und ein wenig Eiweiss enthielt. Am 4. November war das Thier todt. 60 cbcm. Urin, welcher Eiweiss in reichlicher Menge enthielt und vollkommen frei von Gallenfarbstoff war, wurden aus der Blase gewonnen.

Section. Starke Fettinfiltration der Leber. Unter dem Mikroskope zeigten sich die Leberzellen zum Theil mit grossen glänzenden Fetttropfen erfüllt, auch zahlreiche freie Fetttropfen schwammen im Präparate.

Der Magen war mit braun-schwärzlicher breiiger Masse gefüllt und seine Schleimhaut blass und zerreisslich. Die Mesenterialgefässe waren stark mit Blut gefüllt, nirgends Hämorrhagien. Im oberen Theil des Dünndarmes war bräunlichgelbe Flüssigkeit, weiter unten und im Dickdarm eingedickte Kothmassen. Darmschleimhaut blass.

Das Herz normal gross, enthielt unvollkommen geronnenes Blut. Milz ziemlich stark vergrössert; es floss eine dunkelrothe Flüssigkeit von der Schnittfläche. Nieren gross; auf der Schnittfläche erschien die Rinde derb und die Marksubstanz gelbröthlich. Mikroskopisch zeigte sich in den Epithelzellen der Harncanäle ziemlich starke Verfettung.

6. Versuch. 10. November 1891.

Einem Kaninchen von 2200 gr. Körpergewicht wurde eine kleine Portion Blut aus einem Gefässe des Ohres entnommen und dann 0,04 gr. Phosphor subcutan injicirt. Am 11. November gab das Thier 85 cbcm. Urin, welcher Eiweiss in bedeutender Menge enthielt. Aus dem Aetherextracte wurden 0,427 gr. milchsaures Zink gewonnen. Am 12. November war das Thier todt. Aus der Blase wurden 70 cbcm. Urin entleert. In diesem Urin fand sich Eiweiss in reichlicher Menge, während Zucker und Gallenfarbstoff sich nicht nachweisen liessen. 0,477 gr. milchsaures Zink in dem Aetherextracte.

Sectionsbefund war ganz derselbe wie im 4. und 5. Versuche.

Die Ergebnisse der Versuche zeigt folgende Tabelle:

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Milchsaures Zink.	Versuch.	Bemerkungen.
21. V.	71 cbcm.	alkal.	fehlt	fehlt	I	
22. »	88 »	do.	do.	0,37 gr.		
25. »	73 »	neutr.	vorh.	0,226 gr.	II	
27. »	82 »	alkal.	fehlt	fehlt	III	Mit CO-Gas vergiftet.
28. »	42 »	do.	vorh.	0,17 gr.		
1. XI.	100 »	do.	fehlt	fehlt	IV	12,47 % Hämogl. im Blute vor der Vergiftung.
2. »	82 »	sauer	vorh.	0,301 gr.		12,81 % Hämogl. im Blute nach dem Tode.
3. »	117 »	alkal.	do.	fehlt	V	12,97 % Hämogl. vor der Vergiftung.
4. »	60 »	do.	do.	do.		12,72 % Hämogl. nach dem Tode.
11. »	85 »	—	reichl.	0,427 gr.	VI	12,31 % Hämogl. v. d. Vergift.
12. »	70 »	--	do.	0,477 »		12,24 % Hämogl. n. d. Vergift.

Die Resultate der geschilderten Versuche ergeben, dass der Hämoglobingehalt des in den lebenden Gefässen circulirenden Blutes durch den Phosphor gar nicht geändert ist, wenn der Tod kurze Zeit nach Einführung des Phosphors erfolgt, während die Organe, wie Leber und Nieren, bereits sehr stark erkrankt gefunden werden.

Im Harne wurden Eiweiss und Milchsäure alsbald gefunden. Trotz der sorgfältigen Untersuchung war keine Spur von den übrigen abnormen Bestandtheilen, welche von ver-

schiedenen Autoren schon angegeben waren, wie Leucin, Tyrosin und Oxymandelsäure, im Harne nachzuweisen.

Ich reihe an die erwähnten Versuche noch einige andere an, welche an Kaninchen mit geringer Dosis Phosphor angestellt waren und einige interessante Resultate lieferten.

7. Versuch. 13. November 1891.

Um 9 Uhr Vorm. wurde eine kleine Portion Blut einem Kaninchen von 1920 gr. Körpergewicht entnommen und dann 0,01 gr. Phosphor unter die Haut eingespritzt. 14. November wog das Thier 1892 gr. und befand sich ganz wohl. Aus der Blase wurden 100 cbcm. Urin ausgepresst, der keine abnormen Bestandtheile enthielt. 15. November 1870 gr. Körpergewicht Das Thier zeigte nichts Abnormes. Der Urin enthielt keine Spur von Zucker und Gallenfarbstoff, wohl aber Eiweiss in reichlicher Menge. Keine Milchsäure im Aetherextracte. 16. November 1860 gr. Körpergewicht. Das Thier sah ganz normal aus und frass mit gutem Appetite. Eiweiss war im Urin vorhanden. 0,468 gr. milchsaures Zink aus dem Aetherextracte. 17. November 1850 gr. Körpergewicht. Der gelassene Urin reducirte sehr stark alkalische Kupferlösung und gab schöne gelbe Krystalle von Phenylglycosazon durch Kochen mit essigsaurem Natron und salzsaurem Phenylhydrazin. 0,224 gr. milchsaures Zink aus dem Aetherextracte. 18. November 1650 gr. Körpergewicht. Im Urin wurden Zucker und Eiweiss mit voller Sicherheit nachgewiesen. Im Blute wurde 10,17 % Hämoglobin gefunden. 19. November. Das Thier wog 1420 gr. Der Urin enthielt Zucker und Eiweiss. 0,331 gr. milchsaures Zink aus dem Aetherextracte. Um 4 Uhr Nachm. legte sich das Thier hin und respirirte sehr langsam und tief. In dem aus einem Gefässe des Ohres entnommenen Blute wurde 9,28 % Hämoglobin gefunden. 6 Uhr 20 Min. war es todt.

Section. Bei der Betrachtung mit unbewaffnetem Auge erschien die Leber ganz normal; mikroskopisch wurde auch gar keine Verfettung gefunden. Nieren von normaler Grösse. Die Kapsel trennte sich sehr leicht. Die Rinde war blass, die Marksubstanz roth. Bei der mikroskopischen Untersuchung

fand man keine Fettdegeneration, sondern nur Trübung der Epithelien. Magen, Darm, Lungen und Herz ganz normal.

Die Resultate sind in der folgenden Tabelle übersichtlich zusammengestellt.

Der Hämoglobingehalt wurde nach Hoppe-Seyler'schem Verfahren mit der colorimetrischen Doppelpipette[1]) bestimmt.

Datum.	Körpergewicht.	Hämoglobin.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
13. XI.	1920 gr.	13,11%	—	—	—	—	—
14. »	1892 »	—	100 cbcm.	alkal.	fehlt	fehlt	fehlt
15. »	1870 »	—	260 »	»	vorband.	»	»
16. »	1860 »	—	160 »	»	»	»	0,468 gr.
17. »	1850 »	—	95 »	»	»	vorhand.	0,224 »
18. »	1650 »	10,17%	120 »	sauer	»	»	—
19. »	1420 »	9,28%	120 »	»	»	»	0,331 gr.

8. Versuch. 26. November 1891.

Einem grossen Kaninchen von 1750 gr. Körpergewicht wurde eine kleine Portion Blut entzogen, dann 0,01 gr. Phosphor in Oelemulsion unter die Haut eingespritzt. 27. November. Das Thier befand sich scheinbar ganz wohl und frass mit gutem Appetite. Der Urin enthielt nur ein wenig Eiweiss, sonst keine Spur von abnormen Bestandtheilen. 1650 gr. Körpergewicht. 28. November. Das Thier wog 1650 gr. und schien ganz normal. Im Urin war Eiweiss in reichlicher Menge vorhanden, aber vollkommen frei von Zucker und Gallenfarbstoffe. Aus dem Aetherextracte wurden 0,248 gr. milchsaures Zink dargestellt. 29. November. 1500 gr. Körpergewicht. Das Thier befand sich ganz normal, aber frass gar nichts. Der Urin reducirte sehr stark alkalische Kupferlösung und enthielt viel Eiweiss. Die Menge des gewonnenen Zinklactates betrug 0,256 gr. 30. November. Das Thier wog 1410 gr. Im Urin wurden mit voller Sicherheit Eiweiss und Zucker nachgewiesen. 1. December 1400 gr. Körpergewicht. 10,18% Hämoglobin wurde im Blute gefunden. Zucker liess sich nicht mehr im

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. XVI, S. 505.

Urin nachweisen, während Eiweiss noch in reichlicher Menge vorhanden war. 0,11 gr. Zinklactat aus dem Aetherextracte. Um 3 Uhr Nachm. war das Thier todt.

Sectionsergebnisse sind folgende: Fettgewebe am ganzen Körper sehr sparsam. Das Herz war mit einem dunkelrothen, halbflüssigen Blute gefüllt. Lungen, Magen und Darm zeigten nichts Besonderes. Leber normal gross. Verfettung war nicht deutlich. Nieren zeigten nur Trübung der Epithelien, aber keine deutliche Fettdegeneration.

Datum.	Köpergewicht.	Hämoglobin.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Milchsaures Zink.
26. XI.	1750 gr.	12,79 %	—	—	—	—	—
27. »	1650 »	—	80 cbcm.	alkal.	vorh.	fehlt	fehlt
28. »	1650 »	—	180 »	»	»	»	0,248 gr.
29. »	1500 »	—	200 »	sauer	»	vorh.	0,256 »
30. »	1410 »	—	100 »	»	»	»	fehlt
1. XII.	1400 »	10,18 %	30 »	»	»	fehlt	0,11 gr.

Die mitgetheilten Experimente ergeben unzweifelhaft, dass die rothen Blutkörperchen durch die Einführung des Phosphors in den Organismus nicht unerheblich zerstört worden waren, wenn die Quantität des eingegebenen Phosphors nicht zu gross war und der Tod nicht zu rasch erfolgte. Uebereinstimmend mit diesem Befunde sind die Beobachtungen von Cutler und Bradford (citirt im Centralblatt für medicinische Wissenschaft, 1879, S. 258). Sie zählten bei einem Gesunden 3 311 984 rothe und 4737 weisse Blutkörperchen (1 : 690). Er erhielt 0,01 gr. Phosphor 3mal täglich steigend bis zu 0,06 gr. Als diese Dosis Diarrhöe und Erbrechen hervorgerufen hatte, wurde der Phosphor für 3 Tage ausgesetzt und dann 0,01 gr. 3mal täglich continuirlich gegeben. Am 25. Tage nach der ersten Darreichung des Phosphors zählten sie 2 789 240 rothe und 6431 weisse Blutkörperchen (1 : 433); einige Wochen nach der Aussetzung des Phosphors dagegen wieder 3 249 600 rothe und 5757 weisse Blutkörperchen (1 : 564).

Im Urin wurden Eiweiss und Milchsäure sehr oft nachgewiesen. Aus 7. und 8. Versuchen sei es als bemerkenswerth

hervorgehoben, dass der Zucker, wenn auch nicht constant und nur in geringer Menge, im Harne ausgeschieden war. Es sind bis jetzt nur zwei Beobachtungen von Phosphorvergiftung bekannt, in denen das Vorkommen des Zuckers im Harne erwähnt war. Es betrifft dies einen Fall von Bollinger[1]) aus der Bamberger'schen Klinik und einen von Huber[2]) aus der medicinischen Klinik in Zürich, in dem sich geringe Mengen von Zucker im Harne fanden und mit voller Sicherheit nachgewiesen waren.

Trotz der sorgfältigen Prüfung gelang es mir niemals, eine Spur von Gallenfarbstoff ausfindig zu machen. Dies ist ein wesentlicher Unterschied zwischen den Vergiftungssymptomen bei Menschen und Hunden einerseits und bei Kaninchen andererseits.

Die anatomischen Veränderungen in den sämmtlichen Organen sind fast dieselben wie bei Hunden, welche weiter unten geschildert werden sollen.

II. Versuche an Hunden.

Als Versuchsthiere dienten immer gut ernährte Hunde. Das Phosphor wurde dem Thiere stets unter die Haut beigebracht. Vor der Einspritzung des Phosphors wurde jedesmal eine kleine Portion Blut dem Thiere entnommen und dessen Hämoglobingehalt bestimmt. Sobald allgemeine Vergiftungssymptome auftraten, wurde wieder eine kleine Portion Blut entzogen und dessen Hämoglobingehalt mit dem vorher bestimmten verglichen.

Was die Nahrung betrifft, so wurden die Thiere hauptsächlich mit Pferdefleisch gefüttert, manchmal auch mit Milch, wenn sie Fleischkost verweigerten.

Der Urin wurde meistens aus dem Kasten aufgefangen, der jeden Morgen gründlich gereinigt wurde, und oft auch vermittelst Katheter entleert, wenn die Thiere selbst nicht mehr ihre Blase entleeren konnten. Nachdem der aufgefangene Urin auf Eiweiss, Zucker und Gallenfarbstoff geprüft war, wurde er gewöhnlich zur Darstellung der Milchsäure verwendet.

---

[1]) Archiv für klinische Medicin, Bd. 12, S. 23.

[2]) Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. 14, S. 490.

9. Versuch. 22. Mai 1891.

Ein Hund von 9250 gr. Körpergewicht erhielt 0,04 gr. Phosphor in Oelemulsion unter die Haut. Am folgenden Tage wurde ihm 0,03 gr. Phosphor subcutan injicirt. Am anderen Morgen wurde er todt gefunden.

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Milchsaures Zink.
23. V.	95 cbcm.	sauer	fehlt	fehlt
24. »	50 »	»	»	0,04 gr.

Der letztere Urin gab Biuretreaction.

10. Versuch. 2. Juni 1891.

Ein Hund von 5200 gr. Körpergewicht bekam 0,01 gr. Phosphor unter die Haut. Am folgenden Tage wurde er mit CO-Gas vergiftet. Nach der Vergiftung dauerte 2 Tage lang Zuckerausscheidung im Urine. Am 6. Juni wurde 0,02 gr. Phosphor wieder ihm unter die Haut beigebracht, da der Zucker sich nicht mehr im Harne nachweisen liess. 24 Stunden nach der zweiten Injection gab er einen dunkel gefärbten Urin, welcher schöne Gmelin'sche Reaction zeigte. Das Thier zeigte nun eine unzweifelhafte, icterische Verfärbung an Skleren und Rachenschleimhaut. Am 8. wurde das Thier wieder mit CO vergiftet; der Urin war vollkommen frei von Zucker. Die übrigen Ergebnisse dieses Versuches zeigt folgende Tabelle.

Die ätherischen Rückstände aus Urin vom 9. bis 16. wurden zur Darstellung der Gallensäuren verwendet.

Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Zucker.	Gallenfarbstoff.	Milchsaures Zink.	
2. VI.	—	—	—	—	—	—	0,01 gr. P.
3. »	180 cbcm.	sauer	vorh.	vorh.	fehlt	0,779 gr.	CO-Vergift.
4. »	301 »	»	fehlt	»	»	fehlt	
5. »	594 »	»	»	»	»	»	
6. »	240 »	»	»	fehlt	»	»	0,02 gr. P.
7. »	160 »	»	»	»	vorh.	0,201 gr.	
8. »	255 »	»	vorh.	»	»	0,820 »	CO-Vergift.
9. »	274 »	»	»	»	»	0,060 »	
10. 11. VI.	480 »	»	fehlt	»	»	fehlt	
12. 12. »	430 »	»	»	»	»	»	
14. 15. 16. VI.	664 »	»	»	»	»	»	

11. Versuch. 4. November 1891.

Einem Hunde von 7840 gr. Körpergewicht wurde eine kleine Portion Blut entnommen, dann 0,03 gr. Phosphor unter die Haut eingespritzt. Am 5. November befand er sich ganz wohl. Der Urin zeigte nichts Abnormes. Am 6. November fand ein kleines Geschwür sich am Rande des Maules, in Folge dessen das Thier keine feste Nahrung fressen konnte. Der Hund wurde daher während 6 Tagen ausschliesslich mit Milch gefüttert. Im Harne deutlich Gallenpigment, viel Eiweiss, keine Spur von Zucker. 7. November. Das Thier wog 7580 gr. und war nicht mehr so lustig wie sonst. Der Urin zeigte sehr schöne Gmelin'sche Reaction und enthielt viel Eiweiss. 0,241 gr. milchsaures Zink aus dem Aetherextracte von Urin. Im Blute wurde 12,71 % Hämoglobin gefunden. 8. November. 7570 gr. Körpergewicht. 0,03 gr. Phosphor wurde ihm wieder unter die Haut injicirt. Folgende 2 Tage war er ganz munter und soff Milch mit gutem Appetite. Starke icterische Verfärbung an Skleren und Gaumenschleimhaut. Der Urin zeigte immer deutliche Gmelin'sche Reaction und enthielt ein wenig Eiweiss. Im Aetherextracte war Milchsäure constant vorhanden. 11. November. Er hatte in der Nacht erbrochen und erbrach noch des Morgens; er nahm nur Wasser und erbrach auch dies nach einigen Minuten. Der Urin enthielt Gallenpigment und ein wenig Eiweiss. Leider wurde dieser Urin nicht auf Milchsäure untersucht. 12. November. Er befand sich besser, aber frass noch gar nichts. Der Urin färbte sich intensiv gelb und Gmelin'sche Reaction ergab deutlichen grünen Ring über dem violetten und rothen. Eiweiss war noch vorhanden, wenn auch sehr gering. Aus dem Aetherextracte wurde 0,621 gr. milchsaures Zink dargestellt. Von 13. bis 25. November wurde der tägliche Urin auf Milchsäure immer mit negativem Resultate geprüft, während Gallenfarbstoff constant vorhanden war. 25. November. Er bekam 0,03 gr. Phosphor wieder unter die Haut. 13,24 % Hämoglobin wurde im Blute gefunden. 27. November. Er war sehr elend, frass gar nichts, soff sehr gierig Wasser; ungefähr 20 Minuten nach dem Saufen erbrach er alles. Intensive Gelbfärbung an den Skleren. Der Urin

war sehr hochgradig icterisch; enthielt etwas Eiweiss. 0,578 gr. milchsaures Zink aus dem Aetherextracte. 28. November wurde er todt gefunden.

Sectionsergebnisse sind folgende: Unterhautgewebe mit Hämorrhagien durchgesetzt. Körpermuskeln gelbroth. Das Herz war mit flüssigem Blute gefüllt, sonst makroskopisch normal. Leber vergrössert. Oberfläche und Schnittfläche safrangelb. Gallenblase enthielt eine spärliche Menge Galle. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten sich die Acini gleichmässig mit grossen Fetttropfen erfüllt; deutliche Zellconturen waren nirgend mehr aufzufinden. Beide Nieren normal gross; Oberfläche sehr blass. In feinen Schnitten fanden sich stellenweise kleine Fetttröpfchen in einer Einlagerung. Mageninhalt war eine bräunlichschwarze Flüssigkeit. Schleimhaut getrübt, aber kein Substanzverlust. Das Mesenterium enthielt viel Ecchymosen. Im Duodenum schwarze theerartige Flüssigkeit; Gallengang durchgängig; im Dickdarm eingedichtete Kothmassen; Darmschleimhaut sehr blass, enthielt viel Ecchymosen.

Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Datum.	Körpergewicht.	Futter.	Hämoglobin.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Gallenfarbstoff.	Milchsaures Zink.	Phosphordosis.
	gr.	Pferdefl. gr.	%	cbcm.					
4. XI.	7840	500	14,4	—	- -	—	—	—	0,03 gr. P.
5. »	7830	»	—	150	sauer	fehlt	fehlt	fehlt	
6. »	7600	—	—	274	»	vorh.	vorh.	»	
		Milch cbcm.							
7. »	7580	315	12,71	245	»	»	»	0,241 gr.	
8. »	7570	500	—	281	»	»	»	0,300 »	0,03 gr. P.
9. »	7120	»	—	295	»	»	»	0,672 »	
10. »	6810	»	—	130	»	»	»	0,091 »	
11. »	6510	—	—	200	»	»	»	—	
12. »	6600	—	—	220	»	»	»	0,621 gr.	
		Fleisch gr.							
13. »	6500	380	—	213	»	»	»	fehlt	
14. »	6500	441	—	225	»	»	»	»	
15. »	7000	500	—	248	»	»	»	»	
16. »	7250	»	—	295	»	fehlt	»	»	
17. »	7260	»	—	340	»	»	»	»	

Datum.	Körper-gewicht.	Futter.	Hämo-globin.	Urin-menge.	Re-action.	Eiweiss.	Gallen-farb-stoff.	Milchsaures Zink.	Phosphor-dosis.
	gr.	Fleisch gr.	%	cbcm.					
18. XI.	7510	500	—	370	sauer	fehlt	vorh.	fehlt	
19. »	7610	»	—	360	»	»	»	»	
20. »	7600	»	—	380	»	»	»	»	
21. »	7620	»	—	400	»	»	»	»	
22. »	7630	»	—	420	»	»	»	»	
23. »	7700	»	—	450	»	«	»	»	
24. »	7720	»	—	430	»	»	»	»	
25. »	7810	»	13,24	420	»	»	»	»	0,03 gr. P.
26. »	7410	—	—	300	»	vorh.	»	0,612 gr.	
27. »	6810	—	12,12	72	»	»	»	0,579 »	
28. »	—	—	9,2 aus dem Herz	50	»	»	»	—	

12. Versuch. 8. December 1891.

Ein Hund von 11600 gr. Körpergewicht bekam 0,03 gr. Phosphor unter die Haut. Vor der Injection wurde 14,88 % Hämoglobin im Blute gefunden. 9. December. Er war ganz munter und frass mit gutem Appetite. Der Harn zeigte gar keine Abnormität. Vom 10. bis 12. befand er sich ganz wohl. Kein Gallenpigment, kein Eiweiss, keine Milchsäure im Harne. 12. December. Eine kleine Portion Blut wurde ihm entnommen und dann 0,04 gr. Phosphor unter die Haut beigebracht. Im Blute wurde 14,47 % Hämoglobin gefunden. Der Urin zeigte nur schwache Gmelin'sche Reaction, sonst nichts Abnormes. 14. December. 0,03 gr. Phosphor wurde ihm subcutan injicirt. 15. December. Er hatte in der Nacht alles erbrochen, was er am Abend gefressen hatte. Der Urin färbte sich intensiv icterisch und enthielt etwas Eiweiss. 16. December. An den Skleren zeigte sich eine deutliche, icterische Verfärbung. Der Urin war sehr dunkel, gab schöne Gmelin'sche Reaction und enthielt viel Eiweiss; 0,336 gr. milchsaures Zink aus dem Aetherextracte. 17. December. Im Blute wurde 12,46 % Hämoglobin gefunden. Der Urin enthielt noch viel Gallenpigment und Eiweiss. Vom 18. bis 28. wurde ausser Gallenfarbstoff gar kein abnormer Bestandtheil im Urin nachgewiesen.

28. December. Der Gehalt des Blutes an Hämoglobin war 12,57 %. Nach der Bestimmung des Hämoglobins bekam er 0,03 gr. Phosphor. 29. December. Der Urin ergab sehr schöne Gmelin'sche Reaction, war aber vollkommen frei von Eiweiss. Aus dem Aetherextracte von demselben Urin wurde 0,529 gr. milchsaures Zink dargestellt. 30. December. Er frass gar nichts, soff nur Wasser, erbrach dies wieder. Im Harne trat Gallenfarbstoff neben Eiweiss auf. Vom 1. bis 4. Januar 1892 hielt sich Gallenfarbstoff constant im Urin, während Milchsäure und Eiweiss nicht nachzuweisen waren. 4. Januar. Eine kleine Portion Blut wurde ihm entnommen und 0,02 gr. Phosphor verabreicht. 10,2 % Hämoglobingehalt. 5. Januar. Das Befinden des Thieres war sehr schlecht, es frass gar nichts, war matt und lag ruhig im Käfig. Im Urin wurde Eiweiss in reichlicher Menge neben Gallenfarbstoff nachgewiesen; aus dem Aetherextracte wurde auch Milchsäure dargestellt. 6. Januar. Der Hund war sehr niedergeschlagen und erbrach bräunlichschwarze Masse. Gallenpigment, Eiweiss und Milchsäure waren im Urin vorhanden. 7. Januar. Im Blute wurde 9,32 % Hämoglobin gefunden. Erbrechen schwarzer Massen. Der durch Katheter entleerte Urin war sehr dunkel gefärbt und enthielt viel Eiweiss. Das aus dem Aetherextracte gewonnene Zinklactat war ziemlich reichlich. 8. Januar wurde der Hund todt im Käfig gefunden.

Die Sectionsergebnisse sind folgende: Bei der makroskopischen Beobachtung erschien die Leber total verändert. Oberfläche glatt, grau, ein deutliches Bild der Verfettung. Beide Nieren normal, gross und derb, im Ganzen blass. Auf dem Durchschnitte traten in der Substantia corticalis sehr zahlreiche radiär verlaufende weisse Streifen hervor, welche verfettete gerade Harncanäle zu sein schienen. Im Herzen wurde das Blut ganz flüssig gefunden. Das Pericardium enthielt Ecchymosen. Der Magen war mit einer schmutzig dunkelrothen Masse gefüllt. In der Schleimhaut fanden sich zahlreiche Ecchymosen, aber kein Substanzverlust. Der Darm war mit kleinen punktförmigen Ecchymosen durchsetzt. Das Mesenterium zeigte nur Injection der Gefässe.

Die sämmtlichen Resultate werden durch folgende Tabelle veranschaulicht:

Datum.	Körpergewicht.	Futter.	Hämoglobin.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Gallenfarbstoff.	Milchsaures Zink.	Phosphordosis.
	gr.	Pferdefl. gr.	%	cbcm.					
8. XII.	11600	500	14,88	—	sauer	—	—	—	0,03 gr. P.
9. »	11610	»	—	420	»	fehlt	fehlt	fehlt	
10. »	10950	»	—	430	»	»	»	»	
11. »	11400	»	—	360	»	»	»	»	
12. »	10990	»	14,47	500	»	»	»	»	0,04 gr. P.
13. »	10600	»	—	550	»	»	vorh.	»	
14. »	10370	»	—	600	»	»	»	»	0,03 gr. P.
15. »	10000	—	—	450	»	vorh.	»	»	
16. »	10000	—	—	320	»	»	»	0,336 gr.	
17. »	9982	340	12,46	400	»	»	»	0,244 »	
18. »	10050	500	—	540	»	fehlt	»	fehlt	
19. »	10250	»	—	640	»	»	»	»	
20. »	10330	»	—	650	»	»	»	»	
21. »	10200	»	—	500	»	»	»	»	
22. »	10100	»	—	550	»	»	»	»	
23. »	10250	»	—	520	»	»	»	»	
24. »	10200	»	—	520	»	»	»	»	
25. »	10200	»	—	600	»	»	»	»	
26. »	10160	»	—	580	»	»	»	»	
27. »	10180	»	—	580	»	»	»	»	
28. »	10250	»	12,57	580	»	»	»	»	0,03 gr. P.
29. »	10000	—	—	420	»	»	»	0,529 gr.	
30. »	9910	—	—	400	»	vorh.	»	0,469 »	
31. »	9800	500	—	—	»	—	—	—	
1. I.	9700	»	—	300	»	fehlt	vorh.	fehlt	
2. »	9760	»	—	320	»	»	»	»	
3. »	9820	»	—	400	»	»	»	»	
4. »	9791	»	10,20	370	»	»	»	»	0,02 gr. P.
5. »	9310	—	—	250	»	vorh.	»	0,782 gr.	
6. »	8920	—	—	120	»	»	»	0,588 »	
7. »	8640	—	9,32	80	»	»	»	0,479 »	
8. »	—	—	—	—	—	—	—	—	

Die Urinportionen wurden zur Darstellung der in ihnen etwa enthaltenen Gallensäuren erst mit neutralem, dann mit basischem Bleiacetate und etwas Ammoniak gefällt, der Niederschlag mit Alkohol ausgekocht und heiss filtrirt, aus dem

Verdampfungsrückstande des Alkoholauszuges mit Natriumcarbonat die Natriumverbindungen der Gallensäuren gewonnen.

Um die Eigenschaften der dargestellten Gallensäuren näher zu untersuchen, wurden 3 Portionen von gallensaurem Natron in einen Kolben zusammengebracht und 24 Stunden mit Barytwasser gekocht. Die alkalische Flüssigkeit wurde darauf mit CO_2 gesättigt und heiss filtrirt. Nach starkem Ansäuern mit Salzsäure wurde die ausgeschiedene Cholalsäure abfiltrirt und mit Wasser gut ausgewaschen, das Filtrat bis zur Trockne verdunstet und der Rückstand mit Alkohol extrahirt. Hierbei würde etwa vorhandenes salzsaures Glycocoll in die Lösung übergegangen sein, während Taurin und Chlorbaryum auf dem Filter zurückblieben. Der Rückstand wurde wieder in wenig Wasser aufgelöst und das Baryum mit H_2SO_4 vorsichtig gefällt. Die von Baryumsulfat befreite Flüssigkeit auf dem Wasserbade eingedampft, der Rückstand mit Alkohol behandelt, Taurin durch frisch gefälltes Quecksilberoxyd gefällt und durch H_2S wieder von Quecksilber getrennt.

Da in den nach oben geschildertem Verfahren dargestellten Zersetzungsproducten keine Spur von Glycocoll nachzuweisen war, so ist es nicht zweifelhaft, dass die Hundeharne nur Taurocholsäure enthielten.

Die gewonnene Cholalsäure wurde in Alkohol aufgelöst und ihr Drehungsvermögen mit dem Soleil'schen Apparate bestimmt.

11,389 cbcm. Inhalt des Rohres.
3,15 Skalatheile beobachteter Drehung.
0,378 gr. Substanz bei 110° C. getrocknet.
$(\alpha)_j = +32,62°$.

Die Cholalsäure wurde wieder in die Baryumverbindung übergeführt und der Analyse unterworfen.

Dieselbe ergab für Cholalsäure folgende Zahlen:

I. 0,25 gr. Substanz bei 110° C. getrocknet gaben 0,551 gr. CO_2 und 0,188 gr. H_2O, entsprechend 60,00% C und 8,32% H.

II. 0,17 gr. Substanz bei 110° C. getrocknet gaben 0,375 gr. CO_2 und 0,134 gr. H_2O, entsprechend 60,11% C und 8,7% H.

	Berechnet:	Gefunden: I.	II.
C	60,54	60,00	60,11
H	8,22	8,32	8,70
Ba	14,40	13,40	13,94.

Die Abweichung im Kohlenstoffgehalte ist wahrscheinlich auf Verunreinigung zurückzuführen.

Das gereinigte Taurin wurde mit einer Mischung von kohlensaurem Natron und salpetersaurem Natron in einer Platinschale bis zum Verschwinden der Kohle vorsichtig geglüht, die Masse nach dem Erkalten in Wasser gelöst, im Becherglas mit Salzsäure übergesättigt und Chlorbaryumlösung tropfenweise so lange zugefügt, bis kein Niederschlag mehr entstand.

Aus dem gewonnenen Baryumsulfat wurde der Schwefelgehalt des Taurins berechnet.

0,093 gr. Taurin gaben 0,1674 gr. $BaSO_4$ = 0,023 gr. S.

	Berechnet:	Gefunden:
S	25,6 %	24,73 %.

Da mir nach Bestimmung des Schwefels keine genügende Menge der Substanz mehr zur Ausführung der zweiten Analyse zu Gebote stand, musste ich mich mit diesem Resultate begnügen, welches allerdings eine erhebliche Abweichung im gefundenen Schwefelgehalte gegenüber dem berechneten ergibt. Die mikroskopische Untersuchung der Krystalle ergab völlige Uebereinstimmung der Formen mit Taurin aus Rindergalle gewonnen.

Als ein wesentlicher Unterschied von den Vergiftungserscheinungen, die bei Hunden und bei Kaninchen beobachtet worden sind, ist Icterus hervorzuheben, welcher bei Kaninchen niemals, dagegen bei Hunden meistens in hohem Grade aufgetreten war. Stadelmann[1]) gibt an, dass die Kaninchen bei Arsenwasserstoffvergiftung viel schwerer und in geringerem Grade Gewebsicterus bekommen, als Hunde und Katzen. Worin die Ursache für diesen Unterschied liegt, ist ohne Weiteres nicht zu erklären.

---

[1]) Archiv f. exp. Path. u. Pharmakol., Bd. XVI, S. 254.

Es scheint vor längerer Zeit schon Schultzen und Riess[1]) gelungen zu sein, im Urine von mit Phosphor vergifteten Menschen Gallensäuren nachzuweisen. Da aber keine weitere Angabe in ihrer Arbeit zu finden ist, als folgende: «Die Bleifällung enthielt reichliche Menge von Gallensäuren, welche daraus nach der bekannten Methode durch Alkohol, Verdunsten mit kohlensaurem Natron und abermalige Extraction mit absolutem Alkohol dargestellt wurde», so müssen wir annehmen, dass sie gar keine Analyse mit den von ihnen dargestellten Gallensäuren ausgeführt, sondern nur das alkoholische Extract mit Pettenkofer'scher Reaction geprüft hatten.

Feltz und Ritter[2]) fanden in ihren an Hunden angestellten Versuchen, dass bei der Antimon-, arsenigen Säure- und Phosphorvergiftung Gallensäuren und Gallenfarbstoff im Harne ausgeschieden waren. Zum Nachweise der Gallensäuren hatten sie nur Pettenkofer'sche Reaction benutzt.

Es sind verschiedene Substanzen bekannt, die die Pettenkofer'sche Reaction geben, z. B. Eiweiss, Oelsäure, Amylalkohol, Morphin, gewisse Concentration von Cholesterin u. s. w. Selbst wenn der Harn von Hunden und von Menschen vollkommen frei von oben genannten Substanzen ist, gibt diese Reaction doch kein zuverlässiges Resultat, weil, wie Makay[3]) angibt, der normale Harn bei der Anstellung der Pettenkofer'schen Reaction dieselbe Farbe zeigt, wie der mit Gallensäuren versetzte. Um die Gallensäuren sicher nachzuweisen, ist es sonach erforderlich, dass die Säuren dargestellt und ihre Zersetzungsproducte untersucht werden.

Von den übrigen gesuchten abnormen Bestandtheilen fand sich Eiweiss sehr häufig und manchmal in ziemlich grossen Quantitäten, Gallenpigment dagegen constant; Milchsäure wurde in nicht unerheblicher Menge sehr oft nachgewiesen.

Das Blut war nach dem Tode im Herzen halbflüssig oder flüssig gefunden worden und dessen Hämoglobingehalt war schon während des Lebens beträchtlich vermindert.

---

[1]) Annalen d. Charité-Krankenhauses, Bd. XV, S. 43.

[2]) Journal d'anatomie et de la physiologie; 1876, p. 91.

[3]) Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XIX, S. 278.

Wie es schon von verschiedenen Autoren beschrieben worden ist, habe ich auch in diesen Versuchen die Verfettungen der Leber und oft auch der Nieren bei der Section gefunden.

II. Arsenige Säurevergiftung.

Wie die geschilderten Versuchsreihen beweisen, ist es unzweifelhaft, dass die Einführung des Phosphors in den Organismus die Ausscheidung der Milchsäure zur Folge hat. In Anbetracht der Aehnlichkeit von chemischer Eigenschaft und der physiologischen Wirkung des Arsens lag es nahe, zu untersuchen, ob bei einem Thier nach Eingabe des Arsens Milchsäure im Harne nachzuweisen ist.

Die Untersuchungen, welche von H. Meyer[1]) über die Alkalescenz des Blutes angestellt waren, hatten zur Beobachtung geführt, dass unter dem Einflusse der arsenigen Säure das arterielle Blut einen sehr niedrigen Gehalt an Kohlensäure zeigt und im Blute der vergifteten Thiere stets eine abnorme Säure vorhanden war, die nach seiner Analyse Gährungsmilchsäure sein musste. Da aber er niemals den Urin auf Milchsäure geprüft hatte, ist es von Interesse, aus dem Urine von einem mit arseniger Säure vergifteten Thiere Milchsäure darzustellen und deren Eigenschaft genau zu studiren.

Zu den Symptomen der Arsenvergiftung ist Icterus gezählt, welcher besonders bei Hunden leicht zu beobachten ist. Nun liegt die Möglichkeit hier auch vor, Gallensäuren aus Harn darzustellen. Zu diesem Zwecke hatten Feltz und Ritter[2]) schon Hunde mit arseniger Säure und arsenigsaurem Natron vergiftet und deren Urine mit der Pettenkofer'schen Reaction auf Gallensäuren untersucht. Wenn die Pettenkofer'sche Reaction kein zuverlässiges Resultat liefert, wie oben geschildert ist, und daher die Versuche von Feltz und Ritter keine Beweiskraft für das Vorkommen der Gallensäuren im Harne haben, so ist es nicht überflüssig, in dieser Richtung eine eingehende Untersuchung auszuführen.

---

[1]) Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XIV, S. 340.

[2]) A. a. O.

Die vorliegenden Versuche wurden an Kaninchen und an Hunden angestellt. Die arsenige Säure wurde Kaninchen entweder durch Schlundsonde in den Magen eingeführt oder direct unter die Haut eingespritzt; dagegen bei Hunden wurde sie meistens in Fleisch eingewickelt gegeben.

I. Versuche an Kaninchen.

13. Versuch. 5. December 1891.

Einem grossen Kaninchen wurde 0,02 gr. arseniger Säure in Wasser gelöst mit Schlundsonde in den Magen eingeführt. 5 Stunden nach Eingabe entleerte das Thier sehr viel flüssige Kothmasse und frass gar nichts. Am folgenden Tag war es sehr matt und ging unter Diarrhöe zu Grunde. Aus der Blase wurden 30 cbcm. Urin gewonnen, welcher sehr sauer reagirte und Eiweiss in reichlicher Menge enthielt. Aus dem Aetherextracte wurde Milchsäure als Zinksalz dargestellt.

Section. Starke Verfettung der Leber und der Nieren. Die Mucosa des Magens war mit kleinen Ecchymosen durchsetzt.

14. Versuch. 10. December 1891.

Einem Kaninchen wurde 0,02 gr. arseniger Säure durch Schlundsonde in den Magen geführt. 6 Stunden nach der Eingabe fing Diarrhöe an aufzutreten. Am anderen Morgen wurde der Urin aus der Blase ausgedrückt, welcher Eiweiss und Gallenfarbstoff enthielt. Auch Milchsäure wurde aus dem Aetherextracte dargestellt. Das Befinden des Thieres war sehr schlecht, es hatte keinen Appetit, konnte nicht mehr springen. Icterische Verfärbung war nicht zu constatiren. Am 12. wurde es im Käfig todt gefunden.

Die Sectionsergebnisse waren ganz dieselben, wie im 13. Versuche.

15. Versuch. 18. December 1891.

Ein grosses Kaninchen erhielt 0,02 gr. arseniger Säure unter die Haut. Am anderen Morgen trat Diarrhöe auf und das Thier frass gar nichts. Der Urin enthielt etwas Eiweiss und Milchsäure. Am 20. war es todt. Der Urin, der aus der Blase entleert wurde, zeigte sehr schöne Gmelin'sche

Reaction. Leider war die Quantität des Urins zu gering, Milchsäure darzustellen.

Sectionsbefund wie in den beiden vorangehenden Versuchen. Fettdegeneration der Leber und der Nieren. Das Herz enthielt gut geronnenes Blut. Im Pericardium war keine Ecchymosirung zu constatiren. Magen- und Darmschleimhaut ecchymosirt, aber kein Substanzverlust.

Versuch.	Datum.	Urinmenge.	Reaction.	Eiweiss.	Gallenfarbstoff.	Milchsaures Zink.	Arsendosis.
13.	5. XII.	—	—	—	—	—	0,02 gr. As_2O_3 in den Magen.
	6. »	30 cbcm.	sauer	vorh.	?	0,086 gr.	
14.	10. »	—	—	—	—	—	Desgleichen.
	11. »	80 cbcm.	neutral	vorh.	vorh.	0,366 gr.	
	12. »	50 »	»	»	—	0,176 »	
15.	18. »	—	—	—	—	—	0,02 gr. As_2O_3 unter die Haut.
	19. »	120 cbcm.	neutral	vorh.	fehlt	0,390 gr.	
	20. »	20 »	sauer	»	vorh.	—	

Die gewonnenen Zinksalzmengen wurden vereinigt und mit Thierkohle gereinigt. Das gereinigte Zinksalz zeigte die charakteristischen Krystallformen des milchsauren Zinks. Die Lösung des Zinksalzes, 0,325 gr. in 30 cbcm. H_2O aufgelöst, zeigte bei der Untersuchung mit dem Soleil'schen Apparate keine Drehung. Leider musste ich wegen des Mangels an Material darauf verzichten, das Drehungsvermögen der freien Milchsäure zu prüfen. Die übrigen Eigenschaften des Zinksalzes weichen ganz ab von denjenigen des Zinklactates, welches zuerst von H. Meyer[1]) im Blut von dem mit As_2O_3 vergifteten Hunde gefunden und genau untersucht worden ist. Die Krystalle lösten sich ziemlich leicht in kaltem Wasser und waren sogar nicht unlöslich in Alkohol, selbst absolutem. Die Krystallwasser- und Zinkbestimmungen ergaben folgende Zahlen:

I. 0,3 gr. Substanz bei 110° C. getrocknet verlor 0,039 gr. H_2O = 13% H_2O.

II. 0,241 gr. Substanz bei 110° C. getrocknet verlor 0,032 gr. H_2O = 13,28% H_2O.

	I.	II.
H_2O	13%	13,28%.

[1]) A. a. O.

I. 0,261 gr. wasserfreies Salz mit Schwefel im Wasserstoffstrome verbrannt lieferte 0,103 gr. ZnS = 0,069 gr. Zn.

Berechnet:	Gefunden:
26,74 %	26,43 %.

II. 0,209 gr. wasserfreier Substanz lieferte 0,083 gr. ZnS = 0,0556 gr. Zn.

Berechnet:	Gefunden:
26,74 %	26,60 %.

Aus den erwähnten Beobachtungen ist es ersichtlich, dass die aus dem Urine von dem mit arseniger Säure vergifteten Kaninchen dargestellte Säure weder Fleischmilchsäure noch Gährungsmilchsäure allein war, sondern ein Gemisch beider Säuren. Wenn es nicht unwahrscheinlich sei, dass bei der genannten Vergiftung zunächst Gährungsmilchsäure im Blute gebildet und dieselbe dann in anderen Organen erst in die active Form umgewandelt wird, wie H. Meyer[1]) behauptete, so wäre die Möglichkeit auch nicht ausgeschlossen, dass beide Säuren gleichzeitig im Urine auftreten. Da bekanntlich Fleischmilchsäure sehr schwach auf die Polarisationsebene wirkt, ist es gar nicht auffallend, dass ein Gemisch beider Säuren je nach der Menge der activen Säure besonders schwer Drehung erkennen lässt.

Wislicenus[2]) hatte angegeben, dass die Milchsäure des Fleisches ein Gemisch zweier verschiedener Säuren ist, von welchen die eine, die Hauptmenge bildende, die Schwingungsebene des polarisirten Lichtes nach rechts dreht und gut krystallisirende Salze bildet, während die der zweiten in weit geringerer Menge auftretenden Säure nur ein sehr geringes Krystallisationsvermögen besitzen.

Die Veränderungen der Organe sind beinahe dieselben, wie bei der Phosphorvergiftung. Als einziger Unterschied ist es hervorzuheben, dass Gallenfarbstoff oft im Urine nachgewiesen wurde, wenn auch Icterus in den Geweben nicht zu constatiren war.

II. Versuche an Hunden.

16. Versuch. 21. Januar 1892.

Einem grossen Hunde von 18700 gr. Körpergewicht wurde 0,035 gr. arseniger Säure in Substanz, in Fleisch gewickelt,

[1]) A. a. O.

[2]) Annalen der Chemie u. Pharmacie, Bd. 167, 1873.

gegeben. Vom 22. Februar bis 17. Februar wurde fast jeden Tag arsenige Säure dem Thiere beigebracht und dessen Urin immer auf Eiweiss, Gallenfarbstoff und Milchsäure geprüft. Da das Thier enorm grosse Dosis von arseniger Säure aushielt, so habe ich seinen Koth mit Salzsäure extrahirt und in das Extract Schwefelwasserstoff eingeleitet, wobei ein gelber Niederschlag in reichlicher Menge entstand. Dieser gelbe Niederschlag war nichts anderes als Arsensulfid, welches bewies, dass die eingegebene arsenige Säure grösstentheils durch den Darmcanal mit den Kothmassen ausgeschieden war.

Die gesammten Resultate ergeben sich aus folgender Tabelle:

Datum.	Einnahme d. As_2O_3.	Futter.	Urinmenge.	Reaction.	Spec. Gew.	Eiweiss.	Gallenfarbstoff.	Milchsaures Zink.
21. I.	0,035 gr.	Pferdefleisch 500 gr.	—	—	—	—	—	—
22. »	0,053 »	»	630 cbcm.	sauer	1,041	fehlt	fehlt	fehlt
23. »	0,090 »	»	760 »	«	1,040	»	»	»
24. »	0,128 »	»	800 »	»	1,037	»	»	»
25. »	0,186 »	»	690 »	»	1,040	»	»	»
26. »	0,110 »	»	600 »	»	1,041	vorh.	vorh.	»
27. »	—	»	500 »	»	1,040	»	»	0,041 gr.
28. »	0,118 gr.	erbrochen	500 »	»	1,041	fehlt	»	0,022 »
29. »	—	»	520 »	»	1,045	»	»	fehlt
30. »	0,253 gr.	500 gr.	580 »	»	1,047	»	»	»
31. »	0,185 »	»	570 »	»	1,049	»	»	»
1. II.	0,268 »	erbrochen	590 »	»	1,047	»	»	»
2. »	0,260 »	»	620 »	»	1,047	»	»	»
3. »	0,270 »	500 gr.	680 »	»	1,044	»	»	»
4. »	0,300 »	»	460 »	»	1,030	»	»	»
5. »	0,400 »	»	640 »	»	1,040	»	»	»
6. »	0,520 »	»	600 »	»	1,045	»	»	»
7. »	—	»	570 »	»	1,050	»	»	»
8. »	0,829 gr.	»	460 »	»	1,051	vorh.	»	0,199 gr.
9. »	0,947 »	erbrochen	420 »	»	1,054	»	»	}
10. »	1,000 »	»	400 »	»	1,057	»	»	} 0,462 gr.
11. »	1,100 »	»	430 »	»	1,055	»	»	}
12. »	—	»	320 »	»	1,058	»	»	}
13. »	—	»	200 »	»	1,056	»	»	}
14. »	0,841 gr.	360 gr.	360 »	»	1,055	»	»	} 0,324 gr.
15. »	0,960 »	200 »	520 »	»	1,055	»	»	}
16. »	—	320 »	640 »	»	1,048	»	»	}
17. »	—	—	600 »	»	1,048	»	»	}

Das Thier befindet sich noch ganz wohl.

Die ätherischen Rückstände von Urinen von 27. Januar bis 16. Februar wurden vereinigt und zur Darstellung von Gallensäuren verwendet.

17. Versuch. 6. Februar 1892.

Einem grossen Hunde von 7200 gr. Körpergewicht wurde eine kleine Portion Blut entnommen und dann 0,105 gr. As_2O_3, in Fleisch gewickelt, gegeben. Von 7. bis 21. Februar wurde arsenige Säure, in Fleisch gewickelt, gegeben und von 22. bis 24. unter die Haut beigebracht. 24. Februar 3 Uhr Nachm. wurde das Thier im Kasten todt gefunden.

Zur bequemeren Uebersicht stelle ich die Ergebnisse dieses Versuches in folgender Tabelle zusammen.

Section. Die Leber war stark verfettet, wie bei der Phosphorvergiftung. Die Gallenblase war mit ziemlich viel Galle gefüllt; Gallengang durchgängig. Beide Nieren normal gross und blass. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte sich in den Epithelzellen der Harncanälchen nur Trübung. Magen- und Darmschleimhäute waren mit vielen Ecchymosen durchsetzt.

Datum.	Einnahme der As_2O_3.	Futter.	Hämoglobin.	Urinmenge.	Reaction.	Spec. Gew.	Eiweiss.	Gallenfarbstoff.	Milchsaures Zink.
		Pferdefleisch							
6. II.	0,102 gr.	500 gr.	14,87%	—	sauer	—	—	—	—
7. »	0,237 »	»	—	250 cbcm.	»	1,055	fehlt	fehlt	fehlt
8. »	0,514 »	»	—	240 »	»	1,056	»	vorh.	»
9. »	0,521 »	erbrochen	—	200 »	»	1,053	vorh.	»	0,669 gr.
10. »	0,500 »	—	—	100 »	»	1,054	»	»	0,580 »
11. »	0,100 »	--	—	130 »	»	1,052	»	»	fehlt
12. »	—	—	—	240 »	»	1,050	fehlt	»	»
13. »	—	280 gr.	14,11%	280 »	»	1,051	»	»	»
14. »	0,240 gr.	500 »	—	295 »	»	1,050	»	»	»
15. »	0,600 »	»	—	300 »	»	1,052	»	»	»
16. »	0,620 »	»	—	270 »	»	1,049	vorh.	»	0,020 gr.
17. »	0,470 »	erbrochen	—	80 »	»	1,032	»	»	0,11 »
18. »	0,630 »	—	—	120 »	»	1,050	»	»	fehlt
19. »	—	200 gr.	—	200 »	»	1,052	»	»	»
20. »	—	500 gr.	13,77%	300 »	»	1,050	»	»	»
21. »	—	»	—	360 »	»	1,054	fehlt	»	»
22. »	0,03 gr. } [1]	{ er frisst	—	390 »	»	1,052	vorh.	»	—
23. »	0,03 » }	nichts }	—	80 »	»	1,032	»	»	} 0,48 gr.
24. »	Tod	—	—	50 »	»	—	»	»	

[1]) Injection unter die Haut.

Die ätherischen Rückstände von Harnen von 10. bis 24. Februar wurden zur Darstellung der Gallensäuren verwendet.

Die aus dem Harne von beiden Hunden gewonnenen Gallensäuren wurden durch Kochen mit heiss gesättigter Aetzbarytlösung in Cholalsäure und Taurin übergeführt und das Drehungsvermögen der Cholalsäure mit dem Circumpolarisationsapparate bestimmt.

0,3 Skalatheile der beobachteten Drehung.
0,043 gr. = Rückstand v. d. Lösung.
9,35 cbcm. = Inhalt des Rohres.
$(\alpha)_j = +34,5^{\circ}$.

Für eine Verbrennung reichte die Quantität der Cholalsäure nicht hin.

Die in den geschilderten Versuchen erhaltenen Werthe für die im Urin ausgeschiedene Milchsäure, oft schnell in auf einander folgenden Tagen in ihrer Höhe wechselnd oder ganz verschwindend, lassen durchaus keine Beziehung zu den Leberaffectionen erkennen. Die Milchsäure kann im Harne sehr früh erscheinen und steigt in der Menge meist nicht hoch, auch wenn der Tod früh eintritt, kann sehr gesteigert werden durch Combination der Phosphorerkrankung mit Kohlenoxydvergiftung, tritt früher auf als der Icterus und kann verschwinden, während der Icterus noch längere Zeit fortbesteht.

Die Ausscheidung der Milchsäure im Harne von Kaninchen und Hunden bei Phosphorvergiftung ist ganz entschieden nicht hervorgerufen durch Anämie. Der Blutfarbstoffgehalt im Blute der vergifteten Thiere erwies sich bei allen Untersuchungen noch so hoch (obwohl allmälige Abnahme des Procentgehaltes in einigen Versuchen nachgewiesen wurde), dass nur sehr mässige Verringerung sich ergibt, soweit überhaupt eine Abnahme vorhanden war, so dass durch diese Verringerung an sich in keinem Falle eine Milchsäureausscheidung bedingt sein konnte.

Es bleibt sonach keine andere Möglichkeit, als dass die Milchsäureausscheidung hervorgerufen und unterhalten wird durch die Abnahme der Herz-

thätigkeit, welche H. Meyer[1]) als eine bereits früh nach geschehener Vergiftung eintretende Folge derselben erwiesen hat. Wird die Blutcirculation wesentlich verlangsamt, so ist die Sauerstoffabgabe des Blutes an die Organe in gleicher Weise vermindert, wie die Sauerstoffaufnahme aus der Luft in die Lunge.

Die Abnahme der Alkalescenz des Blutes als Folge der Milchsäurebildung und Ausscheidung schliesst sich eng an, ebenso die reichliche Harnstoffbildung. Von den Leberaffectionen kann wohl allein die früh und hochgradig eintretende Fettanhäufung in der Leber als der gleichen Ursache entsprungen aufgefasst werden.

Der Icterus, d. h. der reichliche und andauernde Uebergang von Gallenfarbstoff, auch gar nicht sehr geringe Uebergang von Taurocholsäure beim Hunde in Blut und Harn ist eine Folge der Phosphorvergiftung, die nicht gleich eintritt, einmal zu Stande gekommen lange fortbesteht, unzweifelhaft im Zusammenhange steht mit der Abnahme des Procentgehaltes an Blutfarbstoff im Blute, aber im Uebrigen noch unbekannten Verhältnissen entspringt.

Glycose zeigt sich selten, aber doch entschieden zuweilen im Harne bei der Phosphorvergiftung. Recht interessant ist das reichliche Erscheinen des Zuckers neben sehr gesteigerter Milchsäureausscheidung in Folge der hinzugefügten Kohlenoxydvergiftung.

Nach diesen Befunden muss der Sauerstoffmangel bei der Phosphorvergiftung des Grades, wie er in obigen Versuchen vorhanden war, als ein mässiger angesehen werden, da die Erscheinungen, die er hervorruft, durch die Kohlenoxydeinwirkung erhebliche Steigerung erfahren.

Auch in verschiedenen Versuchen anderer Herstellung des Sauerstoffmangels, welche ich in meinen früheren Mittheilungen beschrieben habe, ergab sich als Ausdruck geringen Sauerstoffmangels geringe Lactatausscheidung; mit Steigerung des Sauerstoffmangels tritt dann Zunahme der Milchsäureausscheidung und bei gutem Ernährungszustand Glycosurie ein.

[1]) Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmakol., Bd. XIV.

Biuretreaction gab der Urin nur in einem Versuche; Leucin und Tyrosin wurde nie gefunden, sie fehlen bekanntlich auch gewöhnlich im Harne von Menschen bei Phosphorvergiftung.

Die Erscheinungen der Vergiftung mit arseniger Säure schliessen sich an diejenigen der Phosphorvergiftung eng an, sowohl bezüglich der Milchsäure im Harne, als auch in Betreff der langsam sich ausbildenden, dann lange fortbestehenden Leberaffection bei Hunden.

Physiol.-chemisch. Institut zu Strassburg, Mai 1892.

Ueber die Milchsäure im Blut und Harn.

Von

Dr. T. Irisawa aus Tokio, Japan.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg.)

(Der Redaction zugegangen am 15. Juni 1892.)

Enderlin[1]) und Hans Meyer[2]) gelang der Nachweis von Milchsäure weder im Blute verschiedener Pflanzenfresser, noch im menschlichen Leichenblute. Salomon[3]) fand bei 22 Untersuchungen von menschlichem Leichenblut zwanzigmal Milchsäure und schloss daraus, dass sie einen constanten Bestandtheil desselben bilde. Aus Aderlassblut konnte er hingegen in 19 Fällen nur fünfmal (davon zweimal nur Spuren) Milchsäure darstellen. Durch weitere Untersuchungen kam er später zur Ansicht, dass normales Aderlassblut, frisch untersucht, gewöhnlich keine Milchsäure enthält. Gaglio[4]) hat durch zwölfmal wiederholte Versuche an Hunden im frisch aus der Art. carotis abgelassenen Blute jedesmal Milchsäure constatirt, und zwar in ziemlich ansehnlicher Menge; er fand bei diesen Bestimmungen im Maximum 0,103 %, im Minimum 0,017 % und im Mittel 0,039 %. Ausserdem erhielt er noch 0,081 % Milchsäure aus dem centrifugirten Serum des Hundeblutes und 0,096 % vom Kaninchenblute. Diese Beobachtungen bestätigte Berlinerblau[5]), indem er aus Kaninchenblut

---

[1]) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 46, S. 164.

[2]) Archiv f. exp. Pathologie u. Pharmakologie, Bd. 17, S. 311.

[3]) Zeitschrift f. physiolog. Chemie, Bd. 2, S. 65; Charité-Annalen, Jahrg. 5, S. 137.

[4]) Archiv f. Anatomie u. Physiologie, 1886, Physiolog. Abtheilung, S. 400.

[5]) Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 23, S. 335.

0,0645 bis 0,723 %, aus Hundeblut 0,071 % und aus venösem Menschenblut 0,0079 % Milchsäure darstellte.

Ich ging bei meinen Untersuchungen von dem Gedanken aus, dass der Gehalt an Milchsäure im Leichenblut ein verschiedener sein müsse, je nachdem der Tod schnell, ohne jede vorbereitenden Stadien, oder erst durch langsame Aufhebung der einen oder anderen Lebensbedingungen erfolge; mit anderen Worten, ich suchte festzustellen, in wie weit der Sauerstoffmangel beim Eintreten des Todes von Einfluss auf den Milchsäuregehalt des Blutes sei. Zur Beantwortung dieser Frage habe ich an dem Blute verschiedener kranker Menschen Milchsäurebestimmungen vorgenommen, deren Ergebnisse nachstehende Tabelle enthält.

Tabelle I.

	Blutmenge. cbcm.	Milchsaures Zink.	Milchsaures Zink in ‰.	Zucker.
Fall I. . . .	250	0,112	0,448	—
Fall II. . . .	125	0,095	0,760	—
Fall III . . .	150	0,045	0,300	—
Fall IV . . .	180	0,042	0,233	—
Fall V. . . .	150	0,408	0,272	—
Fall VI . . .	200	0,350	1,750	0,06 %
Fall VII . . .	130	0,455	3,500	0,092 %
Fall VIII . . .	120	0,584	4,866	kein Zucker gefunden.
Fall IX . . .	120	0,789	6,575	do.
Fall X. . . .	300	0,603	2,010	—
Fall XI . . .	230	0,532	2,313	—

Fall I. C. B., 70jähr. Frau.

Im agonischen Zustande im Spital aufgenommen, starb nach 24 Stunden. Wurde diagnostirt: Hochgradige Bronchitis, Emphysem und doppelseitige Pleuritis mit starkem Oedem namentlich der Extremitäten. Bei der Autopsie: im linken Thorax ca. 750 cbcm., im rechten 1250 cbcm. trübe gelbbraune Flüssigkeit, im Herzbeutel 20 cbcm. gleichartige Flüssigkeit. Rechter Ventrikel des Herzens hypertrophirt. Beide Lungen im emphysematösen Zustand. Kein deutliches Lungenödem. Bronchitis deutlich. Hämorrhagien in Magen, Dünn- und Dickdarm, Pankreas- und Uterusschleimhaut. Fettleber mit Atrophie.

Fall II. A. W., 68jähr. Frau.

Seit langer Zeit klagte sie über Gedächtnissschwäche, dann und wann vorübergehende Geistesverwirrung. Schmächtig, mässig genährt. Innerer Befund normal. Zunge zittert etwas, Pupillen reagiren schwach; starkes Romberg'sches Symptom. Schmerzempfindung herabgesetzt. Haut- und Periostreflex sowie Muskelerregbarkeit lebhaft gesteigert. Während des Verlaufes litt die Kranke am acuten Gelenkrheumatismus. Sprache unverständlich, stark benommen. Exitus durch Collapsus. Sectionsbefund: Herz mit frisch geronnenem Blut, Muskulatur schlaff, sehr blass ohne deutliche Degeneration. Intima mit bindegewebiger und verkalkter Verdickung. In beiden Pleuren wenige graurothe Flüssigkeit. Im Oberlappen der rechten Lunge eine wallnussgrosse mit käsigem Inhalt gefüllte Caverne, deren Umgebung schiefrig indurirt. Im Dünndarm reichliche Menge von gallig gefärbter, dünnflüssiger Masse. Im Rectum zwei kleine, oberflächliche Ulcerationen. Dementia senilis, Pachymeningitis haemorrhagica.

Fall III. A. B., 77jähr. Wagner.

Wurde im Delirium hereingebracht. Kein Fieber, Dyspnöe, unregelmässiger frequenter Puls, Lungenemphysem, Herz dilatirt nach rechts, linke Pleuritis, Anasarka, etwas Ascites, Unterextremität ödematös. Kein Eiweiss im Harn. Wahrscheinlich Alkoholismus. Bei der Section: Dura mater stark verdickt, Pia mater ödematös, viel Flüssigkeit von heller Farbe in den nicht erweiterten Ventrikeln. Grosser Blutgehalt des Gehirns. In der linken Pleurahöhle ca. $1^1/_2$ Liter gelblicher, trüber Flüssigkeit, Lungenödem, Lungenemphysem, Bronchitis, Thrombosen in den Lungenarterien. Im Herzbeutel 150 cbcm. Flüssigkeit, rechter Ventrikel dilatirt. In der Bauchhöhle $^3/_4$ Liter Flüssigkeit. Im Magen geringer, wässeriger Inhalt. Hämorrhagie im Duodenum. Induration der Milz und Nieren. Pigmentleber.

Fall IV. T. B., 45jähr. Frau.

Ein Sohn phthisisch. Die Patientin seit 4 Jahren erkrankt; schwächlich, schlecht genährt. Muskulatur und Fettpolster schwach entwickelt. Starke Dyspnöe, kein Oedem, Lebertumor druckempfindlich, Milz palpirbar. Linke Lunge: gedämpft tympanitisch, amphorisches Athmen, bronchiales In- und Exspirium, reichliche Rasseln; rechts ungefähr dasselbe Bild. Herztöne rein, Herzaction aber sehr beschleunigt; Schluckbeschwerde. Bei der Section: in beiden Pleurahöhlen mässige Menge trüber Flüssigkeit. Linke Lunge von dicken weissen Schwarten bedeckt, vollständig zusammengefallen, Spitze schiefrig indurirt, eine mit schaumiger Flüssigkeit gefüllte Caverne. Thrombose in der Lungenarterie. Rechte Lunge sehr gross emphysematös, geröthet; in der Spitze vereinzelte, grössere und kleinere Cavernen, peribronchitische Herde. Bronchialschleimhaut geröthet. Rechter Herzventrikel dilatirt, fettige Degeneration der Papillar-

muskeln; linker Ventrikel atrophisch, klein. Geringfügige Arteriosklerose der Aorta. Muskatnussleber, Hämorrhagie im Darm. Peri- und Parametritis chron.

Fall V. N., 28jähr. Tramwayarbeiter.
Während der Arbeit plötzlich gestorben. Bei der Section: Lungen zurückgesunken, aber gut lufthaltig. Herz sehr gross, Spitze vom rechten Ventrikel gebildet. Rechtes Herz schlaff, enthält nur flüssiges Blut; Muskulatur atrophisch, anämisch; linker Ventrikel contrahirt, myocarditische Schwielen in der Wand und in den Papillarmuskeln. Starke Atheromatose der Aortensegel, Verengung der Ursprungsstrecke der Arteria coronaria dextra, nur für eine Sonde noch durchgängig. Starke Arteriosklerose der Aorta ascendens und descendens. Milz etwas gross, sehr brüchig, von sehr dunkler Farbe. Leber blassgelb, acinöse Zeichnung wenig deutlich. Im Magen viel Speisereste. Duodenum gallig gefärbt, sonst nicht besonders. Diagnose: chronische Myocarditis, Arteriosklerose, Fettleber.

Fall VI. L. W., 45jähr. Mann.
Trinker, stark abgemagert, klagte öfters über Vergesslichkeit, Kopfschmerzen, Schwindel; einmal Schlaganfall mit Zuckungen, dabei völliger Sprachverlust und Lähmung des rechten Armes und Beines, Bewusstsein aber erhalten; nachher gebessert, aber Sprache immer noch gestört. Er ist sehr unruhig, reagirt nicht. Versuch zu stehen und gehen macht Schwierigkeit, steht mit den gespreizten Beinen, schwankt nach links und rechts, fällt um nach links und hinten. Pupille sehr eng, reagirt nicht. Patellarreflex nicht zu erzielen, kein Fussclonus. Keine Contractur oder erhebliche Krümmung. Sensibiliät nicht zu prüfen. Zuckungen wurden wiederholt beobachtet, vorwiegend rechts. Athmung ruhig, sehr oberflächlich. Puls klein, frequent. In der letzten Zeit bekam er einen ausgedehnten, gangränösen Decubitus. Verfiel allmälig und es erfolgte der Tod. Autopsie: Flüssiges Blut im Sinus longitudinalis. Dura mater sehr dick, Pia stark ödematös, längs der medianen Spalte bindegewebige Verdickung mit zahlreichen Pacchionischen Granulationen versehen. Reichliche Flüssigkeit in den Seitenventrikeln. Leichte Granulirung des Ependyms am IV. Ventrikel. Am Halstheil des Rückenmarks Pia stark grau pigmentirt und starr, da auch ganze weisse Substanz etwas diffus grau. Im Duralsack Flüssigkeit. Beide Lungen mässig ödematös, Mittellappen blutreich. Allgemeine Atrophie der Organe, namentlich der Leber.

Fall VII. A. G., 45jähr. Mann.
Kräftig gebaut, gut genährt. Compression der Trachea durch Oesophaguscarcinom, schliesslich Durchbruch in die Trachea; hochgradige Dyspnöe. Bei der Section zeigten beide Lungen das Bild der gangränösen Pneumonie. Herz etwas gross, sonst normal. Unter dem Arytaenoidknorpel ist der Oesophagus in grosser Aus-

dehnung in eine mit schmierigen Massen belegte Höhle mit unregelmässigen Wandungen verwandelt. Von dieser Höhle aus führen zwei linsen- bis pfenniggrosse Oeffnungen in die Trachea, deren Schleimhaut schwarz gefärbt erscheint. Magenschleimhaut stark gefaltet, mit dünnem Schleim bedeckt. Alte hämorrhagische Flecke in der Mucosa des Darmes. Fettleber.

Fall VIII. L. S., 52jähr. Frau,

Linksseitige Grosshirnhemiplegie mit Deviation conjuguée nach links hin. Verbreiterung des Herzens nach links. Harn eiweisshaltig. Oedem. Coma. Sectionsbefund: Pia mater stark verdickt, derb und ödematös; an der Convexität dagegen sehr dünn und zerreisslich. An der Hirnbasis ca. 40 cbcm. klare röthliche Flüssigkeit. Art. basilica und vertebralis weit und mit reichlichen Sklerosen besetzt. Beide Carotiden stark verdickt. An der Verästelung der Fossae Sylvii kommen zerstreute Sklerosen, besonders stark rechts. Linker Seitenventrikel und III. Ventrikel sind erweitert, enthalten blutige Flüssigkeit; im rechten mehr Blut und Gerinnselmassen. Auf dem rechten Thalamus opticus eine klaffende Spalte mit Blutklumpen. In der Kleinhirnhemisphäre eine stark geröthete Stelle. Pia des Pons verdickt. Lunge: catarrhalische Pneumonie. Leber: Muskatnusszeichnung, bräunliche Färbung. Im Magen brauner Inhalt, am Duodenum Schleimhautdefect.

Fall IX. J. K., 43jähr. Mann.

Abgemagert, ödematös. Diagnose: Bronchitis purlenta, Bronchiektasie, Nephritis parenchymatosa (amyloïd), Darmtuberculose. Im Oberlappen der linken Lunge eine grosse Höhle mit dicker Eitermasse gefüllt. Das übrige Lungengewebe emphysematös. Die kleinen Bronchialäste sind erweitert und enthalten Eiter. Beide Nieren amyloïd degenerirt, auch mit käsigen Knötchen versehen. In den Gedärmen flüssiger Inhalt.

Fall X. F., 18jähr. Knabe.

Tod durch Ertrinken. Sectionsbefund: In der Trachea blutige Flüssigkeit, keine festen Massen; beide Lungen sehr stark gebläht; Randemphysem. Im Herzen flüssiges Blut. Lungen sind schwer. Auf dem Durchschnitt entleert sich reichliche Menge schaumiger röthlicher Flüssigkeit (Lungenödem). Unterleibsorgane zeigen venöse Hyperämie.

Fall XI. M. B., 28jähr. Frau.

Diagnose: croupöse Pneumonie.

Die gefundenen Mengen von Zinklactat sind in den verschiedenen Fällen ziemlich verschieden. Im Blute der Fälle 1, 3, 4 und 5 übersteigt der Gehalt an Milchsäure nicht die

normale Menge, während er in den Fällen 6, 7, 8, 9, 10 und 11 so hoch ist, dass er über den normalen Gehalt weit hinausgeht. Fall 2 steht ungefähr in der Mitte zwischen den beiden Gruppen.

Die Ursache dieser Steigerung des Milchsäuregehaltes im Blut ist schwer zu erklären. Es kann sein, dass entweder der hochgradige Sauerstoffmangel in den letzten Stunden des Lebens allein dieselbe veranlasst hat, oder aber die Ursache darin liegt, dass das Blut in einigen Fällen der Leiche kurz nach dem Tode entzogen wurde, in anderen Fällen hingegen erst einen Tag später. Durch Krankheitsgeschichte und Sectionsprotocoll allein ist man hier nicht im Stande, die Erscheinungen genügend klar zu erledigen; dazu sind noch eine grosse Anzahl von Lactatbestimmungen in verschiedenem Blute und weitere Forschungen in dieser Richtung hin nothwendig.

Die Methode, dic ich zur Lactatbestimmung im Blute, resp. im Harn, benutzt habe, ist kurz folgende:

Das Blut wurde zunächst mit dem dreifachen Volumen Alkohol extrahirt und filtrirt, das Filtrat bis zu Syrupdicke eingedampft, darauf mit Aetzbaryt stark alkalisch gemacht und nun mit reichlichen Mengen Aether geschüttelt, um die Fette zu beseitigen. Dann wurde der Rückstand mit Phosphorsäure angesäuert und fünf- bis sechsmal, je 20 Minuten mit stets erneuerter Menge Aether tüchtig geschüttelt, wodurch die vorhandene Milchsäure extrahirt wurde. Der Aetherextract wurde abdestillirt und der Rückstand, eine dickflüssige Masse, in Wasser aufgenommen. Die Lösung wurde vorsichtig eingedampft, um den zurückgebliebenen Aether und die flüchtige Säure zu vertreiben, darauf Zinkcarbonat zugesetzt, aufgekocht, dann filtrirt. Die Lösung wurde bis zur beginnenden Krystallbildung abgedampft, dann erkalten lassen und hierauf zur völligen Ausscheidung des Zinklactats einige Tropfen absoluten Alkohols zugesetzt und an der Luft bis zur Gewichtsconstanz stehen gelassen. Die Zuverlässigkeit dieser von mir angewandten Methode hat College Araki[1]) seiner Zeit schon eingehend geprüft.

---

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 15, S. 335.

2.

Dass der normale Harn des Menschen und der Säugethiere keine Milchsäure enthält, ist eine seit Liebig[1]) schon bekannte Thatsache, während der Uebergang derselben in den Harn nach starker Muskelanstrengung (Spiro)[2]), nach der Leberexstirpation bei Gänsen (Prof. Minkowski)[3]), bei acuter Leberatrophie und Phosphorvergiftung (Schultzen und Riess)[4]), beim Sauerstoffmangel sowohl durch die einfache Sauerstoffentziehung von Athemluft, als bei Vergiftungen mit Kohlenoxyd, Curare, Strychnin u. a. (Araki)[5]), bei hochgradiger Anämie (Prof. Hoppe-Seyler)[6]) u. s. w. vielfach beobachtet wurde.

Verschiedene Menschenharne, welche sämmtlich kurz vor dem Eintritt des Todes, im Stadium der Agonie gelassen wurden, habe ich auf Milchsäure untersucht. Die Ergebnisse sind folgende:

Tabelle II.

	Harnmenge. cbcm.	Milchsaures Zink.	Milchsaures Zink in °/oo.	Zucker, Eiweiss und Pepton.
Fall I . . .	460 React.: sauer	1,013	2,202	weder Zucker, noch Eiweiss.
Fall II. . . .	400 React.: sauer	—	—	Spur Eiweiss, kein Zucker.
Fall III . . .	115 React.: sauer	0,439	3,817	weder Eiweiss, noch Zucker.
Fall IV . . .	250 React.: alkal.	0,773	3,092	Eiweiss vorhanden, kein Zucker.
Fall V . . .	400 React.: sauer	—	—	viel Eiweiss, kein Zucker.
Fall VI . . .	65 React.: —	—	—	stark icterisch, Eiweiss vorhanden, kein Zucker.
Fall VII. . .	400 React.: neutr.	—	—	viel Eiweiss, kein Zucker, Peptonreaction deutlich.

[1]) Ann. d. Ch. u. Ph., Bd. 62.
[2]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 1, S. 117.
[3]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 21, S. 67.
[4]) Annalen des Charité-Krankenhauses, Bd. 15, S. 1.
[5]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 15—16.
[6]) Therap. Monatshefte, 1891, April.

Fall I. A. H., 16jähr. Mädchen.
Sie klagt seit 4 Wochen über Kopfschmerzen, sehr abgemagert, in der Entwickelung zurückgeblieben. Linke Lunge: die Spitze gedämpft, verschärftes Athmen, Bronchialathmen und Rasseln. Herz normal. Urin eiweissfrei. Unruhig, delirirt und stöhnt fortwährend, somnolent. Der Leib weder aufgetrieben, noch eingesunken. Beide Pupillen weit, keine Facialislähmung. Hals etwas steif; überall sehr empfindlich. Respiration costal. Pathologisch-anatomischer Befund: Tuberculöse Meningitis, chronische Ependymitis, Hydrocephalus internus, kirschengrosse Cyste in der Zirbeldrüse, tuberculöse Knötchen in Lungen, Darm, Tubae, Ovarien, Leber, Milz und Nieren.

Fall II. Dieselbe Person Fall VII, Tabelle I.

Fall III. J. E.
Ein 38jähriger, grosser, kräftiger Mann wurde vom Eisenbahnzug überfahren, bekam dabei die Erscheinungen von Commotio cerebri, nachher gesellte sich dazu linksseitige eiterige Pleuritis. Bei der Section: Jauchig-fibrinöse Pleuritis, ungefähr drei Liter eiterigen Inhalts. Hämorrhagie im ersten Schläfenlappen, blutige Massen am Tentorium, dünne blutige Schicht in der Fossa der linken mittleren Schädelgrube. Collapsus und Atelektase der linken Lunge durch das Exsudat; Lungenödem rechts. Ulcerationen im Oesophagus und Proc. vocalis. Reichlicher, breiiger Inhalt im Dünndarm. Leber klein, braun.

Fall IV. U. H., 52jähr. Mann.
Diagnose: Typhus abdominalis, beiderseitige Pneumonie, namentlich rechts. Bei der Section: typhöse Ulcerationen im Ileum. Milz sehr schlaff und brüchig. Splenisation beider Lungen. Leichtes Lungenödem. Partielles Aneurysma des Sept. ventric. Atrophie der Nieren.

Fall V. J. L., 71jähr. Mann.
Croupöse Pneumonie. Section: Linke Lunge stark gebleicht, voluminös, blutreich, die Spitze stark gebläht, Alveolen stark vergrössert; rechts: Oberlappen vollständig luftleer, im Stadium grauer und graurother Hepatisation, Mittellappen blutreich und feucht. In der rechten Pleura wenig dunkelrothe trübe Flüssigkeit. Braune Erweichung an der Basis der Hirnrinde.

Fall VI. K., 70jähr. Mann.
Carcinom der Gallenblase und des Ductus cysticus. Starker Icterus. An der Stelle des Ductus cyst. ist eine Wulst gebildet, worin man den verengerten Gallengang findet; Hauptwulst liegt am Duct. hepat., welcher 3 cm. lang verdickt, mit schleimiger Flüssigkeit gefüllt und erweitert, so dass man einen Finger einführen kann. Daneben ein Knoten von ziemlicher Grösse mit breiigem Inhalt. Leber stark grün, gross, metastatische Entzündung im linken Claviculargelenk und an

der ersten Rippe. Hämorrhagie der Dura mater. Strictur am absteigenden Theil des Duodenums. Colon schlaff mit breiigen Massen. Schleimhaut der Harnblase hämorrhagisch.

Fall VII. J. A., 28jähr. Mann.

Meningitis tuberculosa, Phthisis pulm., Nephritis diff. chron. Der Kranke befand sich 4 Tage lang vor dem Tode im comatösen Zustand; dabei starke Cyanose vorhanden. In der linken Lungenspitze eine apfelgrosse Caverne, welche mit erweiterten Bronchien communicirt. Lungensubstanz mit zahlreichen Knötchen, beiderseits stark gebläht, indessen keine grössere Verdichtung. Nieren klein, fettig degenerirt, mit Ecchymosen. Im Duodenum kleine Defecte mit braunen Streifen darin. An der Oberfläche der Leber verwachsene, kleine, weisse Herde.

Die geschilderten Resultate beweisen, dass zwar das Auftreten von Milchsäure im Harne, der kurz vor dem Tode gelassen war, keine seltene Erscheinung ist, dass aber auch bei reichlichem Gehalte des Blutes an Milchsäure Milchsäure im Harne nicht gefunden wurde. Bei Fall 7 Tab. II z. B. wurden 3,5 ‰ milchsaures Zink aus dem Blute dargestellt, trotzdem konnte ich sie im Harn nicht deutlich nachweisen. Immerhin ist es von nicht geringem Interesse, dass bei Menschen mit gestörter Oxydation im letzten Stadium des Lebens das Auftreten von Milchsäure im Harne nachgewiesen werden konnte.

3.

Man nahm bisher nur das Serum für den Sitz der Milchsäure im Blute an; im centrifugirten Blute fand Gaglio[1]) 0,081 % Milchsäure. Ich habe nun die Versuche angestellt, sie auch aus Blutkörperchen zu gewinnen, und es ist mir bei jeder Untersuchung von Rinds- und Hundeblut gelungen, Zinklactatkrystalle darzustellen. Wenn die Menge derselben auch zur Analyse zu klein war, so sprechen doch die Eigenschaften der Krystalle dafür, dass sie aus Zinklactat bestanden. Das Darstellungsverfahren war folgendes:

Etwa ein halber Liter Blut wurde in einer flachen Glasschale mit gesättigter Kochsalzlösung zum 10fachen Volumen verdünnt und 24 Stunden hindurch ruhig stehen gelassen, wobei sich die rothen Blutkörperchen zu Boden setzten. Dann wurde die Flüssigkeit vorsichtig abgegossen und der Rück-

[1]) A. a. O.

stand in zwei Theile getheilt. Die erste Portion wurde mit Wasser aufgenommen, über freier Flamme aufgekocht und hierauf abfiltrirt. Das Filtrat wurde nun auf ein kleines Volum eingeengt und dann mit absolutem Alkohol geschüttelt, welcher die vorhandene Milchsäure aufnimmt. Die weiteren Operationen zur Gewinnung der Milchsäure waren die bereits oben geschilderten. Um Alkoholextract zu gewinnen, setzte man gleich zu der zweiten Portion absoluten Alkohol hinzu, ohne irgend mit Wasser zu behandeln. Von beiden Auszügen habe ich Zinklactatkrystalle darstellen können, dagegen wurde saures phosphorsaures Kalium sowohl im Rückstande vom Alkoholauszug als in dem vom Wasserauszug vergeblich gesucht.

Ferner habe ich gelegentlich aus etwa einem Liter frischen Empyemeiters eine kleine Quantität Milchsäure dargestellt.

4.

Auch aus normalem Hundeblut, welches unter ganz freier Athmung, bei Vermeidung jeder Narcose, aus Art. carotis abgelassen wurde, habe ich Milchsäure, deren Quantität mit dem von Gaglio[1]) gefundenen Gehalt beinahe übereinstimmt, gewonnen.

Tabelle III.

	Blutmenge.	Milchsaures Zink.	Milchsaures Zink in ‰.
I. Geschlagenes Blut von einem mittelgrossen Hunde (aus Art carotis)	300	0,162	0,540
II. Geschlagenes Blut von einem grossen Hunde (aus Art. carotis)	250	0,095	0,380

5.

Um zu sehen, ob das Blut, welches von einem am Leben erhaltenen Thiere in mehreren Sitzungen aufgefangen wurde, durch künstlich erzeugte Anämie in Folge des allmälig zunehmenden Sauerstoffmangels die Milchsäure in steigender Menge enthält, wurde ein Versuch am Hunde angestellt.

---

[1]) A. a. O.

Versuch.

Ein grosser Hund, drei Tage in der Ruhe gut gefüttert. Am 7. März 1892 früh 10 Uhr bei Vermeidung jeder Narcose unter freier Athmung von der linken Art. carotis 530 cbcm. Blut (I. Portion), Nachmittags 4½ Uhr von derselben Stelle 130 cbcm. Blut entzogen (II. Portion). Bis zum anderen Morgen entleerte der Hund 1100 cbcm. Urin. Hierauf wurde das Thier drei Tage in der Ruhe gefüttert. Am 10. März 1892 früh 10 Uhr wurden von der rechten Art. carotis 542 cbcm. Blut entzogen und davon 520 cbcm. zur Bestimmung benutzt (III. Portion). Nachmittags 4 Uhr wurden von derselben Stelle 830 cbcm. Blut (IV. Portion) aufgefangen, wobei der Hund durch Verblutung erlag. Kurz vor dem Tode entleerte er noch 160 cbcm. Urin.

Tabelle IV.

Blut.	Blutmenge. cbcm.	Milchsaures Zink.	Milchsaures Zink in ‰.	Zuckergehalt in %.
I. Portion .	530	0,125	0,235	kein Zucker nachgewiesen
II. Portion .	130	0,029	0,223	kein Zucker nachgewiesen
III. Portion .	520	0,180	0,346	0,203
IV. Portion .	830	0,566	0,681	0,147

Harn.	Harnmenge. cbcm.	Milchsaures Zink.	Milchsaures Zink in ‰.	Zucker und Eiweiss.
I.	1100 Reaction: schwach alkal.	wegen Beimengung harziger Substanz nicht gut krystallisirt		weder Zucker, noch Eiweiss
II.	160 Reaction: schwach sauer	do.		weder Zucker, noch Eiweiss

Im Blut der zweiten Portion ist etwas weniger milchsaures Zink vorhanden, als in der ersten; indessen in der dritten und vierten Portion, nämlich nach dem grossen Blutverlust, hat die Menge desselben auffallend zugenommen, während der Zuckergehalt des Blutes gerade das Gegentheil

davon zeigte. Letzteres ist erklärlich, wenn man sich der Annahme anschliesst, dass der Zucker wahrscheinlich ein Zwischenproduct bei der Milchsäurebildung aus Glycogen ist. Leider war ich nicht in der Lage, durch wiederholte Versuche die Untersuchung weiter fortzusetzen und die Arbeit musste vorläufig abgeschlossen werden. Selbstverständlich kann man aus einem einzigen Versuche kein allgemeines Gesetz ableiten, immerhin entspricht das Ergebniss des Versuchs der theoretischen Annahme, dass bei zunehmendem, durch hinter einander folgende Blutentziehungen herbeigeführtem Sauerstoffmangel der Milchsäuregehalt des Blutes allmälig steigt. Ich hoffe, dass ich gelegentlich nochmals auf dieses Thema zurückkommen und mehrere Parallelversuche an Thieren anstellen kann, um die Frage endgiltig zu entscheiden.

Krystallwasser- und Zinkbestimmung des gefundenen Zinklactats:

1. 0,2092 lufttrocknes Salz verloren bei 115° 0,0272 Krystallwasser.

	Berechnet:	Gefunden:
H_2O	12,8 %	13,0 %.

2. In 0,219 des wasserfreien Salzes sind 0,0562 Zink enthalten.

	Berechnet:	Gefunden:
Zn	26,74 %	25,7 %.

6.

Die saure Reaction der Organe nach eingetretener Starre hat man früher der dabei gebildeten Milchsäure allein zugeschrieben. Astaschewsky's Versuche[1]) zeigten aber, dass in den Muskeln die Milchsäure immer an Salze gebunden, niemals frei vorkommt und deshalb die Acidität der Muskeln nicht von der Milchsäure, sondern von darin vorhandenem PO_4KH_2 herrührt, was auch früher schon von Fremy und Valenciennes[2]) angedeutet worden war. Die beim Eintritt der Starre in den Muskeln gebildete Milchsäure entzieht alsbald dem PO_4K_2H den zu ihrer Sättigung erforderlichen Theil des Kalium, wodurch PO_4KH_2 gebildet wird. Wenn man zum Beweis für die Annahme, dass die Milchsäure als Salz im

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 4, S. 397.

[2]) Journ. de Pharm. et Ch., 1855, S. 402.

Muskel vorhanden ist, den sauer reagirenden Wasserauszug von Muskeln stark eindampft und mit Alkohol extrahirt, so zeigt diese Alkohollösung doch keine saure Reaction, weil sie ausschliesslich milchsaures Salz enthält, niemals aber freie Milchsäure.

Ich habe von Hunden, sowohl aus der Leber, als aus dem Pankreas, ganz reine PO_4KH_2-Krystalle wiederholt dargestellt. Es ist also sehr wahrscheinlich, dass die saure Reaction der betreffenden Organe beim Eintritt der Starre ebenfalls nicht von der Milchsäure, wie man bisher annahm, sondern von saurem Kaliumphosphat herrührt (Prof. Hoppe-Seyler hat aus der Presshefe auch PO_4KH_2-Krystalle dargestellt).

Die Ergebnisse der Untersuchungen fasse ich kurz in folgenden Sätzen zusammen:

1. Im Leichenblute ist die Milchsäure stets vorhanden.

2. Im Harn, welcher von kranken Menschen kurz vor dem Tode aufgefangen wurde, ist unter 7 Fällen dreimal Milchsäure nachgewiesen worden.

3. Nachweis der Milchsäure in Blutkörperchen und Eiter ist auch gelungen.

4. Aus frisch behandeltem Aderlassblute von Hunden habe ich jedesmal Milchsäure erhalten.

5. Bei der künstlich erzeugten Anämie ist der Milchsäuregehalt des Blutes um so höher, je stärker der Sauerstoffmangel eintritt.

6. Aus der Leber und dem Pankreas wurden PO_4KH_2-Krystalle dargestellt, die Acidität der todtenstarren Organe ist somit wahrscheinlich darauf zurückzuführen.

Ueber das pflanzliche Amyloid.

Von

E. Winterstein.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 27. Juli 1892.)

Mit dem Namen Amyloid bezeichnen die Botaniker einen Zellwandbestandtheil, welcher gleich dem Stärkemehl durch Jod blau gefärbt wird. Derselbe unterscheidet sich durch diese Reaction von der Cellulose, welche bekanntlich nur bei Gegenwart gewisser Reagentien (Chlorzink, Schwefelsäure) durch Jod eine blaue Farbe annimmt.

Als amyloidhaltig werden folgende Objecte angegeben[1]: die Cotyledonen von Hymenaea Courbaril, Schotia latifolia, Mucuna urens, Tamarindus Indica, bisweilen auch die Cotyledonen von Lupinus, ferner die Membranen des Endosperms des Paeonia-Samens, der Samen von Balsamina-Arten, Tropaeolum majus und einiger Primulaceen, sowie von Asparagus, Gladiolus segetum, Iris acuta, Cyclamen neapolitanum, endlich die Membranen des Cambiums zahlreicher Laub- und besonders Nadelhölzer. Im Lichenin ist gleichfalls Amyloid enthalten.

Das Amyloid fungirt in den Samen als Reservestoff, wie zuerst von Godfrin[2]) für Schotia latifolia, desgleichen

---

[1]) A. Tschirch, Angewandte Pflanzenanatomie, S. 173.

Trécul (Compt. rend., Bd. 47, S. 687) beobachtete die directe blaue Färbung mit Jod ausserdem am Zellgewebe mehrerer Phanerogamen, an den Epidermiszellen und dem Unter-Cuticulargewebe von Ornithogalum pyrenaicum, O. narbonense, Scilla autumnalis, jedoch nicht constant; verschieden stark, doch nicht immer deutlich an den Endospermzellen von Hyacynthus orientalis, Gladiolus psittacus und anderen.

[2]) Ann. de sc. nat., 6 Sér., T. 19, S. 1 ff.

von Frank[1]) für die Samen von Tropaeolum majus, von R. Reiss[2]) für diejenigen von Impatiens Balsamina L., Cyclamen europaeum, Paeonia officinalis L., nachgewiesen wurde.

Im Uebrigen liegen über das Verhalten und die Eigenschaften des Amyloids nur unvollständige Angaben in der Litteratur vor. Von denselben seien hier folgende erwähnt. J. Vogel und M. J. Schleiden[3]) fanden, dass beim Kochen der Cotyledonen von Schotia latifolia, Mucuna urens, Tamarindus indica, Hymenaea Courbaril mit Wasser ein Kleister gebildet wird, der bei bedeutender Verdickung in der Kälte nicht gelatinirte. Die beim Kochen erhaltene klebrige Flüssigkeit wurde durch Jod, je nach der Menge des letzteren, blass- bis dunkelgelb gefärbt; auf Zusatz einer alkoholischen Jodlösung wurde eine blaue Gallerte gefällt. Absoluter Alkohol fällte aus der schleimigen Lösung eine klare, helle Gallerte, welche durch Jod nicht blau gefärbt wurde. Eine vollständige Extraction des Amyloids aus den Cotyledonen von Schotia latifolia und Tamarindus indica war ihnen, selbst nach andauerndem Kochen und öfterem Wechsel des Wassers nicht gelungen, da die übrigbleibenden Zellschichten noch durch Jod blau gefärbt wurden. Frank[4]) beobachtete, dass die durch Jod sich direct bläuenden secundären Membranen der Cotyledonen von Tropaeolum majus mit Schwefelsäure oder Kupferoxydammoniak aufquellen, ohne sich jedoch zu lösen. Er stellte das Amyloid aus diesem Samen auf folgendem Wege dar. Die von der korkigen Hülle befreiten Samen wurden fein pulverisirt, die körnige, stickstoffhaltige Substanz durch Waschen in Leinwand entfernt und das Amyloid aus dem Rückstand durch kochendes Wasser ausgezogen; die erhaltene gummöse Lösung wurde durch Filtration vom Rückstand getrennt. Auf Zusatz von Alkohol wurde aus dieser Lösung eine durchsichtige Gallerte gefällt. Diese amyloidhaltige Flüssig-

---

[1]) Journ. f. pract. Chemie, Bd. 95, S. 493.

[2]) Landw. Jahrbücher, Bd. 18, S. 733.

[3]) Annalen d. Physik u. Physik u. Chemie, Bd. 46, S. 398.

[4]) Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 95, S. 493.

keit wurde durch Jod erst nach einigen Tagen dunkelgrün gefärbt. Durch Eintrocknen der Amyloidlösung erhielt er eine glasartige amorphe Masse, die durch Jod sofort blau gefärbt wurde.

Auch Frank hatte eine vollständige Auflösung der secundären Membran nicht erreichen können; ein Theil verharrte in einem weichen aufgelockerten Zustande.

Nach Reiss[1]) ist Amyloid in 30procentiger Salpetersäure bedeutend leichter löslich, als die Reservecellulose.

Genannter Forscher glaubt, dass aus dem Amyloid durch Hydrolyse Dextrose[2]) entstehe und zwar auf Grund folgender Versuche. Er trug die feingepulverten Samen in die gleiche Gewichtsmenge 70procentiger Schwefelsäure ein, verdünnte die Masse nach 24 Stunden mit viel Wasser, brachte sie auf ein Filter und neutralisirte die saure Flüssigkeit mit Baryumcarbonat; die vom Baryumsulfat getrennte Lösung wurde eingeengt und dann mit 2procentiger Schwefelsäure eine Stunde im Wasserbade erhitzt. Die so erhaltene Zuckerlösung wurde mit Thierkohle entfärbt und mit Baryumcarbonat neutralisirt. Er bekam so einen stark rechtsdrehenden Zuckersyrup, der mit Phenylhydrazin ein bei 203° schmelzendes Osazon lieferte.

Durch die Untersuchungen, deren Resultate im Vorigen zusammengestellt worden sind, ist die chemische Beschaffenheit des Amyloids nicht vollständig aufgeklärt worden. Was insbesondere die Frage nach der Natur der bei Hydrolyse des Amyloids entstehenden Glukose betrifft, so liegen darüber nur Versuche von Reiss vor. Diese Versuche haben aber eine Entscheidung der Frage nicht gebracht. Denn, abgesehen davon, dass Reiss das Vorhandensein von Traubenzucker in der von ihm in beschriebener Weise dargestellten Lösung nur wahrscheinlich gemacht, nicht aber mit Sicherheit nachgewiesen hat, muss es auch für fraglich erklärt werden, ob die in dieser Lösung enthaltene Glukose ausschliesslich aus dem

---

[1]) Landwirthschaftl. Jahrbücher, Bd. 18, S. 735.

[2]) L. c., S. 761.

Amyloid entstanden war. Denn Reiss behandelte die gepulverten Samen mit Schwefelsäure von solcher Stärke, dass darin ausser Amyloid auch Cellulose sich lösen konnte: die in diesem Versuche entstandene Glukose würde also nur dann ausschliesslich als Umwandlungsprodukt des Amyloids bezeichnet werden können, wenn die Zellwandungen der zur Verwendung gelangten Samen nur aus Amyloid bestanden hätten. Dass letzteres aber nicht der Fall war, geht aus den weiter unten gemachten Mittheilungen hervor.

Bei dieser Sachlage schien es angezeigt, das Amyloid einer erneuten Untersuchung zu unterwerfen. Eine solche habe ich auf Veranlassung von Professor E. Schulze unternommen. Sie schliesst sich an die Arbeiten[1]) an, welche der Genannte über die chemische Zusrmmensetzung der Pflanzenzellmembran ausgeführt hat.

Als Material verwendete ich vorzugsweise die Samen von Tropaeolum majus (Kapuzinerkresse), welche leicht und mit geringen Kosten in grösseren Quantitäten zu haben sind. Da es aber angezeigt schien, verschiedene Objecte zu untersuchen, so habe ich auch aus dem Samen von Paeonia officinalis und Impatiens Balsamina das Amyloid isolirt.

Die ersten Versuche stellte ich mit den Samen von Tropaeolum majus an.

Als eine Hauptaufgabe musste es betrachtet werden, über die Beschaffenheit der aus dem Amyloid entstehenden Glukosen Aufklärung zu bekommen.

Es schien, dass dieses Ziel sich leicht würde erreichen lassen, indem man einen aus den genannten Samen dargestellten wässerigen Extract von Amyloid mit verdünnter Schwefelsäure kochte und die dabei entstandene Glukose nach den Methoden untersuchte, welche wir den Arbeiten von E. Fischer, Tollens und Anderen verdanken.

Ich erhitzte daher die feingepulverten Samen, welche vorher mit Aether entfettet und mit kaltem Wasser behandelt worden waren, einige Stunden lang mit Wasser, setzte der

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 227—273; ebendas.; Bd. 15, S. 386—436. Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 22, S. 609; Bd. 24, S. 2277.

durch ein Seihtuch gegossenen schleimigen Lösung so viel concentrirter Schwefelsäure bei, dass sie 3 Procent Schwefelsäure enthielt, kochte die Flüssigkeit 3 Stunden am Rückflusskühler, entfernte die Schwefelsäure vermittelst Barythydrats, filtrirte vom ausgeschiedenen Baryumsulfat ab und engte die zuckerhaltige Flüssigkeit vorsichtig auf dem Wasserbade ein, wobei ich Sorge trug, dass die Lösung ganz schwach sauer blieb.

Der dunkelgefärbte, nicht rein süss schmeckende Syrup, welchen ich so erhielt, wurde in der Wärme mit 90procentigem Alkohol ausgezogen, der Extract vom Ungelösten abfiltrirt und die alkoholische Flüssigkeit 12 Stunden stehen gelassen, wobei noch eine kleine Ausscheidung entstand; es wurde nun von dem Ausgeschiedenen abgegossen und über Schwefelsäure im Exsiccator der Verdunstung überlassen. Der so erhaltene, noch stark gefärbte Syrup, schmeckte nicht rein süss, reducirte aber die Fehling'sche Lösung stark. Mit Thierkohle konnte keine Reinigung erzielt werden[1]).

Das durch Erhitzen mit einer Lösung von essigsaurem Phenylhydrazin, aus einem Theil des Syrups, dargestellte Osazon schmolz bei 188°.

Die Versuche, durch Oxydiren mit Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,15 nach den Vorschriften von Gans und Tollens[2]), Zuckersäure zu erhalten, lieferten kein positives Resultat: es ist zwar möglich, dass eine geringe Menge der genannten Säure entstanden war, aber meine Bemühungen, das Kalisalz rein zu erhalten, waren vergebens: es war stets oxalsaures Kali vorhanden, und nach Entfernen desselben durch Auswaschen mit Wasser hinterblieb eine so unbedeutende Substanzmenge, dass sie nicht hinreichend war, um daraus das zur Analyse nothwendige Silbersalz darzustellen.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse gewann ich die Ueberzeugung, dass man nach dem beschriebenen Verfahren

---

[1]) Es schien, dass die vorhandenen Glukosen durch andere Stoffe verunreinigt waren. Der Grund liegt offenbar darin, dass aus den zwar mit Aether und kaltem Wasser extrahirten Samen beim Auskochen mit Wasser neben dem Amyloid noch andere Stoffe in Lösung gehen.

[2]) Ann. d. Chem., Bd. 245, S. 215.

keine zur Untersuchung geeignete Zuckerlösung erhalten kann und ich wandte mich daher einer anderen Methode zu.

Zunächst bemühte ich mich, das Amyloid möglichst rein darzustellen.

Einen Theil der dabei gewonnenen Präparate benutzte ich, um die Eigenschaften des Amyloids möglichst vollständig kennen zu lernen, einen anderen verzuckerte ich mit verdünnter Schwefelsäure, um die dabei entstandenen Glukosen zu untersuchen.

Im Folgenden mache ich zunächst Mittheilung über die Darstellung des Amyloids und über die zur Ermittelung der Eigenschaften angestellten Versuche; später lasse ich dann die Ergebnisse folgen, die ich bei den aus dem Amyloid entstehenden Glukosen gewonnen habe.

Darstellung des Amyloids.

Die zuvörderst getrockneten Samen von Tropaeolum majus wurden auf einer Mühle gemahlen, das feine Pulver von dem gröberen abgesiebt und eine jede Portion bei den nachfolgenden Operationen getrennt gehalten.

Es kamen 1500 gr. fein gemahlener und 2500 gr. gröber gemahlener Samen zur Verarbeitung.

Behufs Entfettung und Entfernung eines grünen Farbstoffes wurden die gemahlenen Samen unter Aether gebracht und mehrere Tage unter öfterem Umrühren darin belassen, darauf der dunkelgrün gefärbte, fetthaltige Aether abgegossen und noch einmal mit Aether auf angegebene Weise extrahirt, auch beim zweiten Male war der Aether noch stark gefärbt und fetthaltig; es wurden daher die Samen auf ein Tuch gebracht, gut abgepresst und mit Aether nachgewaschen. Durch wiederholtes Auspressen und Nachwaschen gelang es, die Samen von der färbenden Substanz zu befreien.

Bei den Eingangs beschriebenen Versuchen hatte ich bemerkt, dass der wässerige amyloidhaltige Auszug stets braun gefärbt war und die Lösung einen eigenthümlichen, stechenden Geruch besass. Ich versuchte daher, durch Kochen mit Alkohol

die Stoffe, welche diese Erscheinung bedingen, zu entfernen, was auch den gewünschten Erfolg hatte. Die entfetteten Samen wurden in einem mit Deckel verschliessbaren Kupferkessel am Rückflusskühler mehrere Stunden mit 80procentigem Weingeist gekocht, der dabei entstandene braun gefärbte Extract abgegossen, der Rückstand auf ein Tuch gebracht, mehrere Male mit warmem Weingeist ausgewaschen und jedesmal gut abgepresst.

Die so vorbereiteten Samen wurden sodann in mehrere Glascylinder vertheilt, erst einige Male mit kaltem Wasser durch Decantation ausgewaschen, dann mit verdünntem Ammoniak (100 cbcm. Ammoniak auf 4 Liter Wasser) zwei Tage stehen gelassen und zuweilen gut durchgerührt, die hierbei entstandenen dunkelbraunen Extracte wurden von den Samen abgehebert, der Rückstand ausgewaschen, sodann zur möglichsten Entfernung der Proteinstoffe noch mit $^1/_2$procentiger kalter Natronlauge behandelt und endlich bis zur vollständigen Entfernung des Alkalis mit kaltem Wasser ausgewaschen.

Die auf solche Weise von Fett, Eiweiss, Farbstoffen etc. möglichst befreiten Samen kochte ich nun mit destillirtem Wasser; nach ungefähr $^1/_2$stündigem Kochen nahm die Flüssigkeit eine kleistrige Beschaffenheit an. Die Masse wurde in einem geräumigen verzinnten Kupfergefäss, das mit einem Deckel versehen war, 8 Stunden im ständigen Kochen erhalten. Dabei entstand eine dicke schleimige Flüssigkeit, dieselbe wurde durch ein grobes Tuch gegossen. Der Rückstand wurde noch mehrfach mit kochendem Wasser extrahirt. Es zeigte sich nämlich, dass wiederholtes Auskochen mit Wasser nothwendig war, um das Amyloid auch nur einigermassen vollständig in Lösung zu bringen.

Ueber die Behandlung der in dieser Weise erhaltenen Amyloidextracte ist Folgendes anzugeben. Die ersten hellgelben Extracte liess ich in hohen Cylindern stehen, bis die durch das Filtrirtuch gegangenen feinen Samentheilchen sich abgesetzt hatten, da eine Filtration durch Papier unmöglich war. Nach einigen Stunden heberte ich vom Bodensatz ab und versetzte die nochmals durch Tuch filtrirte Flüssigkeit mit

80—90procentigem Alkohol, wobei sich eine steife Gallerte bildete, die sich, wenn man den Alkohol vorsichtig zufliessen lässt, oben ansammelt und dann herausgenommen und durch Ausdrücken leicht von der Flüssigkeit befreit werden kann. Die dritten und weiteren Extracte dunstete ich vorsichtig im Wasserbade ein und fällte sie ebenfalls nach vorangegangener Filtration mit Alkohol aus, doch wollte es auf keine Weise gelingen, aus diesen verdünnten Lösungen eine leicht filtrirbare Masse zu erhalten, und ich konnte die dünnflüssige Gallerte nur mit Hilfe eines weitmaschigen Filtrirzeuges (Stramin) von der Flüssigkeit trennen. Zur Reinigung wurde die Gallerte noch einmal in kochendem Wasser gelöst und abermals mit Weingeist ausgefällt, wobei eine beinahe ungefärbte Gallerte resultirte. Die wässerige Lösung der letzteren war aber noch getrübt. Eine Filtration dieser Flüssigkeit war infolge ihrer schleimigen Beschaffenheit durch Papier nicht gut möglich. Dagegen erhielt ich eine leichter filtrirbare Flüssigkeit, als ich sie einige Stunden im Dampftopf bei 3—4 Atmosphären erhitzte. Ich behandelte daher einen grossen Theil des von mir zur Abscheidung gebrachten Amyloids in dieser Weise; es wurde sodann mit 95procentigem Weingeist ausgefällt, die Gallerte mit absolutem Alkohol behandelt, wobei sie bedeutend an Volumen abnahm und allmählig ihre schleimige Beschaffenheit verlor; sie wurde nun unter Aether gebracht, nach einiger Zeit von demselben abgegossen und schliesslich stark abgepresst; ich bekam so eine faserige, dehnbare, weisse Masse, die nach mehrtägigem Stehen über Schwefelsäure ausgetrocknet war.

Eigenschaften und Zusammensetzung des Amyloids.

Aus der wässerigen Lösung mit Alkohol gefällt, bildet das Amyloid eine ungefärbte durchscheinende, ausserordentlich voluminöse Gallerte. Ueber Schwefelsäure trocknet sie zu einer faserig-blasigen amorphen Masse ein, die sich nur schwer pulverisiren lässt. Mit kaltem Wasser übergossen quillt es auf und nimmt eine schleimige Beschaffenheit an. Mit kochendem Wasser entsteht eine schleimige, schwerbewegliche, etwas

opalisirende Flüssigkeit; dieselbe wird durch Erhitzen im Dampftopf bei 3 Atmosphären dünnflüssiger und ist dann durch Papier leichter zu filtriren; doch geht die Filtration einer nur 1procentigen Lösung immerhin noch langsam von Statten.

Auf Zusatz einer geringen Menge Jod färbt sich die Lösung des Amyloids schön blau, bei noch stärkerem Zusatz entsteht eine dunkelblau gefärbte Gallerte.

Die Blaufärbung der Lösung mit Jod verschwindet in der Wärme und kommt nach Erkalten der Lösung wieder zum Vorschein, eben so wie diejenige des Stärkemehls.

Ammoniak, Schwefelsäure, Chlor, Laugen, sowie concentrirte Mineralsäuren zerstören die Farbe sofort.

Selbst nach audauerndem Kochen mit destillirtem Wasser im Dampftopf reducirt die Lösung des Amyloids nicht die Fehling'sche Flüssigkeit.

Diastase wirkt nicht auf Amyloid ein, wie aus folgendem Versuche hervorgeht. 1 gr. Amyloid wurde in 200 cbcm. kochendem Wasser gelöst und die Lösung nach Abkühlen auf 45° mit wirksamer Diastase 2 Stunden bei dieser Temperatur belassen. Diese Flüssigkeit reducirte Fehling'sche Lösung nicht. Nach längerem, etwa 10stündigem, Einwirken wurden nur Spuren von Kupferoxydul ausgeschieden.

Amyloid ist schon nach eintägigem Einwirken von Kupferoxydammoniak in demselben löslich; aus dieser Lösung wird das Amyloid, im Gegensatz zur Cellulose, durch Säuren nicht ausgeschieden, wohl aber durch Alkohol als faserig-flockiger Niederschlag gefällt, nicht wie aus wässeriger Lösung in Form einer blasigen Gallerte. In concentrirten Laugen ist es nach längerem Digeriren löslich und wird daraus durch Alkohol schleimig gefällt.

F. Schulze'sches Reagenz zerstört es allmählig, wie folgender Versuch zeigt: 2 gr. Amyloid wurden mit 24 gr. Salpetersäure vom spec. Gew. 1,15 und 1,6 gr. Kaliumchlorat 14 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach mehrtägigem Stehen nahm die Masse eine breiige Beschaffenheit an und verflüssigte sich allmählig. Nach Verdünnen mit Wasser

blieb nur ein unbedeutender weisser Rückstand, der abfiltrirt und mit Ammoniak behandelt, sich bis auf Spuren in letzterem löste.

Bemerkenswerth ist, dass das Amyloid mit dem Stärkemehl in folgenden von Griessmayer[1]) für das letztere aufgefundenen Reactionen vollständig übereinstimmt: Versetzt man eine Lösung von Amyloid in Wasser mit verdünnter wässeriger Gerbsäurelösung, so entsteht ein weisser faseriger Niederschlag, welcher sich bei gelindem Erwärmen vollständig auflöst und nach dem Erkalten der Flüssigkeit wieder auftritt. Fügt man zu einer Amyloidlösung eine wässerige Jodlösung hinzu, so wird diese, wie schon erwähnt, prachtvoll blau gefärbt; lässt man zu dieser blauen Flüssigkeit tropfenweise eine verdünnte wässerige Tanninlösung hinzufliessen, so tritt ein auffallender Farbenwechsel ein: anfänglich bleibt die Flüssigkeit blau, beim Schütteln wird sie roth, dann rosa und nach einiger Zeit verschwindet die Färbung vollständig[2]). Auf Zusatz von Jod tritt die blaue Farbe wieder auf. Ganz das Gleiche gilt in allen Punkten, nach den Angaben Griessmayer's, für das Stärkemehl.

Da das Amyloid sich in einigen Punkten den Pflanzenschleimen analog verhält, untersuchte ich das Verhalten der wässerigen Amyloidlösungen gegen Neutralsalze. Es stellte sich heraus, dass das Amyloid auf Zusatz von Natriumsulfat, Magnesiumsulfat, Ammonphosphat und Ammonsulfat aus der wässerigen Lösung ausgefällt wird; es wäre demnach das Amyloid nach der Classification der Saccharocolloide, wie sie J. Pohl[3]) aufgestellt hat, in die Gruppe D zu rechnen.

Alkoholische Jodlösung fällt das Amyloid aus seiner wässerigen Lösung als hellgelbgefärbte Gallerte.

Durch 2—3stündiges Kochen mit verdünnten Mineralsäuren wird das Amyloid vollständig gelöst. Nach einstündigem Kochen mit verdünnter ($2^1/_2$procentiger) Schwefelsäure besitzt

---

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 160, S. 48.

[2]) Wässerige Jodlösung wurde unter gleichen Versuchsbedingungen sofort entfärbt.

[3]) Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 154.

die Lösung immer noch eine schleimige Beschaffenheit und lässt sich kaum durch Papier filtriren.

Dieses Verhalten des Amyloids gegen verdünnte Säuren darf wohl als ein Unterschied des Amyloids von den in manchen Punkten ihm verwandten Pflanzenschleimen betrachtet werden, denn die letzteren zersetzen sich nach den Untersuchungen von Kirchner und Tollens[1]) beim Kochen mit verdünnten Säuren unter Bildung von Glukose und Abscheidung von Cellulose.

Erhitzt man das Amyloid mit mässig concentrirter Salzsäure oder Schwefelsäure, so erhält man beträchtliche Mengen Furfurol. Die Bestimmung der Furfurolausbeute nach den von de Chalmot und Tollens[2]) ausgearbeiteten Verfahren gab folgende Resultate:

a) 2 gr. längere Zeit über Schwefelsäure und einige Stunden bei 60° getrocknetes Amyloid gaben 0,5460 gr. Hydrazon = 0,3069 gr. oder 15,34 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,5540 gr. Hydrazon = 0,3110 gr. oder 15,55 % Furfurol.

Daraus berechnet sich ein Gehalt von 29,62 % an Pentaglycosen.

Bei der Oxydation des Amyloids mit Salpetersäure entsteht Schleimsäure.

Ich habe die quantitative Ausbeute an Schleimsäure nach dem Verfahren von Kent und Tollens[3]) bestimmt und dabei folgende Resultate erhalten:

1. 2,5 gr. trockenes Amyloid gaben 0,2536 gr. Schleimsäure oder 10,14 %.
2. Die gleiche Substanzmenge gab 0,2600 gr. oder 10,4 % Schleimsäure.

Daraus ergibt sich im Mittel ein Gehalt von 13,4 % an Galactose[4]).

Die bei diesen Versuchen erhaltene Schleimsäure bildete in allen Fällen ein weisses Krystallpulver, welches sich schwer in heissem Wasser, leicht in Alkali löste; dieselbe schmolz

---

[1]) Ann. d. Chemie, Bd. 175, S. 215.

[2]) Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 3579.

[3]) Ann. d. Chemie, Bd. 227, S. 221.

[4]) Nach Tollens erhält man aus 100 Th. Galactose 75 Th. Schleimsäure.

bei raschem Erhitzen im Capillarröhrchen bei 208°. Nach Kent und Tollens schwankt der Schmelzpunkt der Schleimsäure je nach der Art des Erhitzens von 200—213°.

Verhalten des Amyloids gegen polarisirtes Licht. Die wässerige Lösung des Amyloids ist optisch aktiv und zwar rechtsdrehend. Eine genaue Ermittelung des specifischen Drehungsvermögens ist aber sehr schwierig, weil die Lösungen auch nach wiederholter Filtration schwach opalisiren; es lassen sich desshalb auch nur verdünnte Lösungen anwenden. Die klarsten Flüssigkeiten erhielt ich, indem ich Amyloid bei 3—4° Atmosphären im Dampftopf mit destillirtem Wasser erhitzte. Eine in dieser Weise dargestellte Lösung, welche in 100 cbcm. 0,7460 gr. wasserfreie Substanz enthielt, dreht im 200 mm.-Rohr +3,9—4,1 (eine genaue Ablesung war nicht möglich), daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +92{,}9°$.

Um zu prüfen, ob etwa durch Erhitzen im Dampftopf die optischen Eigenschaften des Amyloids sich verändert hatten, habe ich eine Probe in kochendem Wasser gelöst; diese Lösung, welche in 100 cbcm. 0,2736 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte unter gleichen Versuchsbedingungen 1,5° nach rechts; daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +94{,}8°$, eine Zahl, welche mit der obigen innerhalb der Fehlergrenzen übereinstimmt.

Zur Ermittelung der Elementarzusammensetzung des Amyloids verbrannte ich das zerriebene, längere Zeit im Exsiccator gestandene und dann — um es vollständig vom Alkohol zu befreien — einige Stunden bei 60° getrocknete und schliesslich wieder lufttrocken gemachte Präparat[1]) im beiderseitig offenen Glasrohr mit Kupferoxyd im Luft-, beziehungsweise Sauerstoffstrom. Bei einer zweiten Analyse wurde in das Verbrennungsschiffchen etwas Bleichromat gebracht, um einen Fehler zu eliminiren, der durch den geringen

[1]) Verwendet man ein lufttrockenes Präparat für die Analyse, so wird ein Fehler vermieden, welcher dadurch verursacht werden kann, dass bei 100° oder einer noch höheren Temperatur getrocknete Substanzen solcher Art sehr schnell wieder Wasser anziehen; letzteres kann während des Abwägens und vor dem Einbringen in die Verbrennungsröhre erfolgen.

Aschengehalt hätte entstehen können. Die Resultate wurden dann in bekannter Weise auf wasserfreie Substanz umgerechnet.

1. 0,2248 gr. Substanz (nach Abzug der geringen Aschenmenge in Rechnung gestellt) gaben 0,1250 gr. H_2O und 0,3512 gr. CO_2.
2. 0,2336 gr. Substanz gaben 0,1290 gr. H_2O und 0,3614 gr. CO_2.
3. 1,8350 gr. Substanz verloren beim Trocknen bei 105° 0,0300 gr. = 1,63 % an Gewicht.

Aus diesen Daten berechnet sich folgender C- und H-Gehalt:

	1.	2.	Mittel:
C	43,30	43,04	43,17.
H	6,09	6,07	6,08.
O	—	-	—

Ueber die den vorstehenden Zahlen entsprechende Formel ist Folgendes zu sagen: es ist denkbar, dass bei der Bildung solcher amorphen Kohlenhydrate mehrere Glukosenmolecüle unter Wasseraustritt sich vereinigen.

Nimmt man z. B. an, dass 2 Hexaglukosenmolecüle und 1 Pentaglukosenmolecül unter Austritt von 2 Molecülen Wasser sich vereinigen, so kann ein Körper von der Formel $C_{17}H_{30}O_{15}$ entstehen. Ein solcher $C_{17}H_{30}O_{15}$-Körper würde 43,04 % C, 6,33 % H und 50,63 % O enthalten, — Zahlen, welche denen des Amyloids, bei der Analyse gefundenen, sehr nahe stehen.

Uebrigens liegt es auf der Hand, dass die Aufstellung einer Formel nur dann einen Sinn hat, wenn man diesen Körper als eine einheitliche Substanz betrachtet; auf diese Frage werde ich weiter unten zurückkommen.

Amyloid aus Paeonia officinalis.

Das aus diesen Samen nach dem früher beschriebenen Verfahren gewonnene Amyloid war in seinem Verhalten und Aussehen dem aus Tropaeolum majus dargestellten ganz ähnlich. Doch war es mir nicht gelungen, dasselbe ebenso weiss zu erhalten. Es sei noch bemerkt, dass es hier längeren Kochens bedarf, um die schleimige Lösung zu erhalten.

Bei der Oxydation dieses Amyloids entsteht ebenfalls, wie bei dem vorigen Präparat, Schleimsäure. Die quantitative

Bestimmung ergab folgende Zahlen: 1 gr. trockenes Amyloid gab 0,1101 gr. Schleimsäure = 11,01 °/₀. Diese Ausbeute stimmt mit der aus dem Tropaeolum-Amyloid annähernd überein.

Auch die bei Destillation mit Säuren entstehende Furfurolmenge zeigt gute Uebereinstimmung, wie aus folgenden Zahlen zu ersehen ist: 1 gr. trockenes Amyloid gab 0,2610 gr. Hydrazon = 0,1598 gr. Furfurol oder 15,98 °/₀.

Amyloid aus Impatiens Balsamina.

Zur Darstellung verwendete ich nur eine kleine Quantität der Samen, aus denen ich nur sehr wenig Amyloid erhalten konnte, das sich, soweit ich constatiren konnte, von dem aus genannten Objecten isolirten nicht unterschied. Es war ebenso wie dasjenige aus Tropaeolum und Paeonia unlöslich in kaltem Wasser, löste sich darin beim Kochen auf; diese Lösung wurde durch wässerige Jodlösung prachtvoll blau gefärbt. Auf Zusatz von Alkohol wurde eine äusserst voluminöse Gallerte gefällt, welche durch Jod nicht gefärbt wurde. Beim Kochen mit 12 procentiger Salzsäure liess sich Furfurol nachweisen (Rothfärbung eines mit Anilinacetat getränkten Papierstreifens). Eine nähere Untersuchung konnte ich wegen der geringen Menge nicht anstellen.

Zu bemerken ist noch, dass sich die Samen von Impatiens Balsamina insofern anders verhielten, als sich das Amyloid relativ leichter durch kochendes Wasser ausziehen liess.

Inversion des Amyloids.

Nach den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen musste ich erwarten, dass bei der Inversion des Amyloids nicht eine, sondern mindestens zwei Glukosen entstehen würden. Dies war auch in der That der Fall.

Die Inversion des Amyloids wurde in folgender Weise ausgeführt: 44 gr. trockenes Amyloid wurden mit einem Liter $2\frac{1}{2}$ procentiger Schwefelsäure vier Stunden am Rückflusskühler gekocht. Nach Beendigung des Kochens beseitigte ich die

Schwefelsäure durch Eintragen von Barythydrat und dunstete die vom Baryumsulfat abfiltrirte Lösung bei gelinder Wärme zum Syrup ein. Letzteren erhitzte ich zunächst mit einer nicht sehr grossen Menge absoluten Alkohols, wobei nur ein geringer Theil des Syrups in Lösung ging. Den Rückstand kochte ich sodann längere Zeit mit 95 procentigem Weingeist; dabei ging derselbe bis auf einen kleinen Rest in Lösung.

Den ersten, vermittelst absoluten Alkohols dargestellten Extract, engte ich im Wasserbade ein und verwendete den an Quantität nicht bedeutenden Syrup zur Darstellung eines Osazons. Zu diesem Zwecke löste ich ihn in wenig Wasser und erhitzte die Lösung eine Zeit lang mit der angemessenen Menge essigsauren Phenylhydrazins im Wasserbade; es schied sich ein hellgelbes Osazon aus, welches abfiltrirt und zwischen Fliesspapier gut abgepresst wurde. Eine Probe krystallisirte ich aus 95 procentigem Weingeist um; die so erhaltenen Krystalle schmolzen bei raschem Erhitzen bei 189°. Einen anderen Theil krystallisirte ich aus heissem Aceton um; die auf diese Weise gereinigten Krystalle schmolzen bei 202°.

Uebrigens ist auf Grund der nachfolgenden Mittheilungen zu entnehmen, dass dieses Product kein einheitliches war.

Den zweiten, mittelst 95 procentigen Weingeistes erhaltenen Extract, welcher die Hauptmasse der bei Inversion des Amyloids gebildeten Glukosen enthielt, dunstete ich gleichfalls auf dem Wasserbade ein; es resultirte ein schwach gelbgefärbter, stark rechtsdrehender Zuckersyrup, welcher einen rein süssen Geschmack besass. Derselbe wurde zur Krystallisation hingestellt.

Erst nach Verlauf von 4 Monaten begannen Krystalle sich auszuscheiden; nachdem die Quantität derselben eine einigermassen beträchtliche geworden war, wurde der flüssig gebliebene Theil von denselben abgegossen; die Krystalle brachte ich auf eine Thonplatte, um die Mutterlauge absaugen zu lassen; zur vollständigen Beseitigung der letzteren wurde mit wenig absolutem Alkohol übersprüht und dann das Product aus Weingeist umkrystallisirt.

Die Untersuchung der so erhaltenen Krystalle im Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat gab folgendes Resultat:

Eine wässerige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,533 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr nach längerem Stehen 35,5° nach rechts; daraus berechnet sich $(\alpha)_D$ nach der Formel: $(\alpha)_D = \frac{a \times 0,346 \times 100}{l \times p} = +81,2°$

$$a = 35,5°, \ l = 2, \ p = 7,665.$$

Die Krystalle wurden nun nochmals aus Weingeist umkrystallisirt; bei der Polarisation dieser Krystalle ergab sich folgendes Resultat. Eine Lösung, welche in 10 cbcm. 0,7600 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte im 20 mm.-Rohr 35,8 nach rechts; daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +81,5°$.

Bei der Oxydation mit Salpetersäure gaben diese Krystalle Schleimsäure; ich habe die Ausbeute davon quantitativ bestimmt und dabei folgende Zahlen erhalten: 1,100 gr. Substanz gab 0,6600 gr. Schleimsäure oder 60 %.

Diese Versuchsergebnisse führen zur Schlussfolgerung, dass der vorliegende Zucker Galactose war. Nach der von Meissl[1]) ausgeführten Bestimmung ist für eine 10procentige Lösung von Galactose bei 15° $(\alpha)_D = +81,55$ — eine Zahl, welche der von mir gefundenen sehr nahe liegt. Auch die Schleimsäureausbeute entspricht dieser Annahme, obgleich aus reiner Galactose 70—75 Procent erhalten wurden[2]); doch bekommt man bei Anwendung geringer Zuckermengen leicht zu niedrige Zahlen.

Aus der von den Krystallen abgegossenen Mutterlauge erhielt ich noch zwei Krystallisationen; dieselben wurden in der oben angegebenen Weise behandelt; dass diese Krystalle von den ersten verschieden waren, geht schon daraus hervor, dass Proben derselben beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure kirschrothe Lösung gaben, was bei der ersten Krystallisation nicht der Fall war.

Die in einem Soleil-Ventzke'schen Apparat ausgeführte Polarisation ergab für die zweite Krystallisation nachstehende

---

[1]) Journ. f. prakt. Chemie, N. F., Bd. 22, S. 100.

[2]) Ann. d. Chemie, Bd. 227, S. 221.

Zahlen. Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,2700 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr 11,4° nach rechts[1]; daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +73°$.

Die Polarisation der dritten Fraction ergab Folgendes: Eine Lösung, welche in 10 cbcm. 0,5380 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr 10,1° nach rechts; daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +30,1°$.

Schliesslich erhielt ich noch eine vierte Krystallfraction, welche dem Aussehen und Verhalten nach zweifellos ein Gemenge war und nicht von dem anhaftenden Syrup befreit werden konnte. Für das specifische Drehungsvermögen ergab sich $(\alpha)_D = +39,4°$, wie aus folgenden Zahlen zu ersehen ist. Eine Lösung, welche in 10 cbcm. 0,6586 gr. Substanz enthielt, drehte im 20 mm.-Rohr unmittelbar nach der Auflösung 21,5° nach rechts, nach 12 Stunden nur noch 15° nach rechts. Die frisch bereitete Lösung dieser Krystallisation, wie auch der vorhergehenden, zeigte also starke Birotation.

Aus der Rothfärbung mit Phloroglucin und Salzsäure, sowie aus der starken Furfurolbildung beim Erhitzen mit 12procentiger Salzsäure geht hervor, dass hier eine Pentose vorlag. Das relativ niedrige Drehungsvermögen lässt vermuthen, dass die vorhandene Pentose nicht Arabinose war. Hätte ein Gemisch von Galactose und Arabinose vorgelegen, so müsste das Drehungsvermögen ein viel grösseres gewesen sein; es ist also wahrscheinlich, dass ein Gemenge von Xylose und Galactose vorlag. Eine Trennung der Ersten von der Galactose vermochte ich nicht auszuführen; um dieses Ziel zu erreichen, hätte ich ungleich grössere Substanzmengen haben müssen. Die Darstellung der letzteren hätte aber den Besitz einer bedeutenden Menge Amyloid vorausgesetzt. Um eine weitere Stütze für die Annahme zu gewinnen, dass Xylose vorlag, habe ich noch versucht, unter den bei Oxydation des Amyloids mit Salpetersäure entstehenden Producten Trioxyglutar-

---

[1]) Diese Bestimmung, wie alle übrigen wurden bei Zimmertemperatur, welche von 15—17° schwankte, ausgeführt.

säure nachzuweisen, welche Säure aus Xylose bei der Oxydation mit Salpetersäure gebildet wird[1]).

Ich konnte mich bei diesen Versuchen nach den Vorschriften von Kiliani[2]) und E. Fischer[3]) richten, musste jedoch eine etwas grössere Säuremenge anwenden, weil das Amyloid schwieriger zu oxydiren ist als die von den Genannten angewendeten Materialien (Arabinose und Xylose).

Ich erhitzte 8 gr. Amyloid mit 32 gr. Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,2 12 Stunden im Wasserbade (in einer flachen Porzellanschale) bei 45°, versetzte darauf den erhaltenen Syrup mit 100 cbcm. Wasser und dunstete auf dem Wasserbade unter ständigem Umrühren in einer Platinschale ein. Um die bei der Oxydation entstehende Schleimsäure zu entfernen, versetzte ich die weisse Masse mit etwas Wasser und liess 24 Stunden stehen. Durch Filtration konnte die Schleimsäure von der hellgelben Lösung getrennt werden[4]). Zur Isolirung der Trioxyglutarsäure wurde nun nach den Vorschriften E. Fischer's das Calciumsalz dargestellt und dieses mit der berechneten Menge Oxalsäure zersetzt, die vom Calciumoxalat abfiltrirte und vermittelst Thierkohle entfärbte Flüssigkeit lieferte nach dem Eindampfen im Vacuum einen Syrup, welcher in heissem Aceton gelöst und von dem geringen Rückstand durch Filtration getrennt wurde. Nach Verdunsten dieser Lösung hinterblieb ein farbloser Syrup, welcher mit kleinen Krystallen durchsetzt war.

Dieser Syrup zeigte alle Reactionen, welche E. Fischer für die Trioxyglutarsäure angibt. Barythydrat und Bleiacetat gaben mit der wässerigen Lösung eine weisse Fällung; mit Baryumacetat entstand ein im Ueberschuss desselben löslicher Niederschlag. Ammoniakalische Silbernitratlösung wurde in der Wärme unter Spiegelbildung reducirt.

---

1) Ber. d. D. chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 1842.

2) Ebendas., Bd. 21, S. 3006.

3) Ebendas., Bd. 24, S. 1842.

4) Es sei hier bemerkt, dass die Schleimsäureausbeute in diesem Falle eine etwas grössere war. Ich erhielt aus 8 gr. Amyloid 0,9600 gr. Schleimsäure = 12 %.

Die im Vorigen beschriebenen Versuche führen zur Schlussfolgerung, dass in dem bei Inversion des Amyloids entstehenden Glukosegemenge Galactose und eine Pentose (Xylose) sich vorfinden, neben denselben scheint aber eine geringe Menge Dextrose vorhanden zu sein. Denn unter den bei Oxydation Zuckersyrup mit Salpetersäure erhaltenen Producten fand sich wahrscheinlich Zuckersäure vor.

Ueber den bezüglichen Versuch ist Folgendes anzugeben: 6,2 gr. Zuckersyrup dunstete ich auf dem Wasserbade mit 25 cbcm. Salpetersäure vom spec. Gew. 1,15 bis zum Syrup ein. Nach dem Erkalten wurde mit Wasser verdünnt, 12 Stunden stehen gelassen und von der ausgeschiedenen Schleimsäure abfiltrirt, das Filtrat eingedampft und nach der von Gans und Tollens[1]) gegebenen Vorschrift mit Kaliumcarbonat neutralisirt; aus der so erhaltenen Flüssigkeit schieden sich nach Verdunstung zum Syrup Krystalle aus, welche das Aussehen des zuckersauren Kaliums besassen, sie wurden auf eine Thonplatte gebracht, durch Auswaschen mit Wasser von der Oxalsäure befreit, dann nach den erwähnten Vorschriften in das neutrale Silbersalz übergeführt. Die Silberbestimmung im letzteren gab folgendes Ergebniss; 0,2173 gr. zuckersaures Silber gaben 0,1114 gr. Silber = 51,27°. Diese Zahl stimmt nicht genau auf Zuckersäure, welche 50,94°/₀ Silber verlangt, was vielleicht im Vorhandensein einer geringen Menge Oxalsäure seinen Grund hat. Mannose entsteht bei der Inversion des Amyloids nicht: ein Theil meines Zuckergemenges gab mit essigsaurem Phenylhydrazin in der Kälte keine Fällung.

Dass auch kein Fruchtzucker bei der Inversion des Amyloids entsteht, ist aus Folgendem zu schliessen. Ich erhitzte 5 gr. Amyloid mit 45 cbcm. Wasser und 5 gr. Schwefelsäure vom spec. Gew. 1,156 eine Stunde im Wasserbade bei 80°; da eine Inversion bei dieser Behandlung noch nicht eingetreten war, wurde die Verzuckerung in derselben Weise noch 5 Stunden fortgesetzt. Dann entsäuerte ich die Flüssigkeit mit Barythydrat, dunstete die vom Baryumsulfat abfiltrirte Flüssigkeit

---

[1]) Ann. d. Chemie, Bd. 245, S. 215.

im Wasserbade zum Syrup ein und extrahirte denselben mit 95 procentigem Weingeist, wobei ein bedeutender Rückstand[1]) hinterblieb. Die vom Ungelösten abfiltrirte weingeistige Lösung versetzte ich mit Aether, wobei eine Ausscheidung stattfand. Nachdem dieselbe sich zu Boden gesetzt hatte, wurde die klare Flüssigkeit im Wasserbade abgedunstet, der zurückbleibende Syrup im Wasser gelöst und polarisirt; die Flüssigkeit war rechtsdrehend. Dieses Ergebniss schliesst also das Vorhandensein von Lävulose aus. Dass keine Lävulose bei der Inversion des Amyloids entsteht, lässt sich wohl noch daraus entnehmen, dass beim Kochen mit stärkeren Säuren die Zuckerlösungen sich nicht bräunen.

Unter den Inversionsproducten des Amyloids haben sich also Galactose und eine Pentose (Xylose) sicher nachweisen lassen; dass daneben Traubenzucker sich vorfindet, ist wenigstens wahrscheinlich.

Es ist noch darauf aufmerksam zu machen, dass vermuthlich neben diesen Glukosen noch andere entstehen. Denn aus der Schleimsäureausbeute, welche man bei Oxydation des Amyloids bekommt, lässt sich berechnen, dass dieses Kohlenhydrat bei der Inversion nur ungefähr 13,4 % Galactose gibt; aus der Furfurolmenge ergibt sich andererseits, dass das Amyloid ungefähr 29,62 % Pentosen geben kann. Galactose und Pentose machen also 43,02 % des Amyloids aus. Dass der Rest der Glukosen Traubenzucker war, ist nicht sehr wahrscheinlich, da nur eine geringe Menge Zuckersäure erhalten wurde. Aus 6,2 gr. Amyloidzucker erhielt ich nur 0,2173 gr. zuckersaures Silber, während man nach Tollens aus 5 gr. Dextrose 2,5 gr. erhält. Wäre der Rest Traubenzucker gewesen, so hätte ich circa 2 gr. zuckersaures Silber erhalten müssen. Für das Entstehen einer nur geringen Menge Zuckersäure sprechen auch die von mir in der Einleitung mitgetheilten Versuche; wie dort erwähnt wurde, konnte ich kein zuckersaures Kalium isoliren, als ich einen

[1]) Dieser Rückstand wurde, ebenso wie die wässerige Lösung desselben, durch Jod nicht mehr blau gefärbt. Derselbe war optisch activ. Die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens gab für $(\alpha)_D = +51,9$.

wässerigen, amyloidhaltigen Extract aus den Tropaeolum-Samen mit Schwefelsäure erhitzte und den dabei erhaltenen Zuckersyrup sodann mit Salpetersäure oxydirte. Wäre eine nur einigermassen beträchtliche Traubenzuckermenge vorhanden gewesen, so hätte ich bei diesen wiederholten Versuchen auch Zuckersäure erhalten müssen.

Man muss demnach vermuthen, dass andere Glukosen vorhanden waren, deren Nachweis mit den zu Gebote stehenden Mitteln nicht möglich war. Es ist wahrscheinlich, dass ein nicht krystallisirender Zucker sich gebildet hatte, denn es blieb eine starke syrupförmige Mutterlauge über. Für das Vorhandensein einer solchen nicht krystallisirenden Zuckerart scheint auch die Thatsache zu sprechen, dass der bei Inversion des Amyloids erhaltene Zuckersyrup, obwohl derselbe sehr wenig Beimengungen zu enthalten schien[1]) erst nach Verlauf von 4 Monaten zu krystallisiren begann und dass eine raschere Krystallisation auch dann nicht zu erreichen war, indem ich den Syrup in heissem Weingeist löste und die Lösung über Schwefelsäure verdunsten liess. Hätte nur ein Gemenge von Galactose, Xylose und etwas Traubenzucker vorgelegen, so wäre die Krystallisation erfahrungsgemäss viel schneller von Statten gegangen. Zu dieser Annahme ist man auch wohl auf Grund des folgenden Versuchs berechtigt. Ich trennte, so gut als möglich, einen Theil des flüssig gebliebenen Syrups von den Krystallen, brachte diesen auf Fliesspapier und presste ab; die zurückgebliebenen Krystalle wurden entfernt und das Papier mit Wasser ausgezogen; diese wässerige Lösung wurde filtrirt und mit essigsaurem Phenylhydrazin $^1/_2$ Stunde auf 80° erwärmt; das ausgeschiedene Osazon auf ein Filter gebracht, zwischen Fliesspapier gut abgepresst und im Exsiccator getrocknet[2]); dasselbe schmolz bei raschem Erhitzen bei 145°.

---

[1]) Wofür auch der reine süsse Geschmack und die Farblosigkeit des Syrups spricht.

[2]) Die Substanzmenge war nicht hinreichend, um aus Alkohol umzukrystallisiren.

Ist das Amyloid ein chemisch einfacher Körper?

Eine vollständig sichere Beantwortung dieser Frage ist für dieses Kohlenhydrat nicht zu geben. Es ist hier noch darauf aufmerksam zu machen, dass es unter denjenigen Kohlenhydraten, welche Tollens als Poly-Saccharide bezeichnet, überhaupt nur sehr wenige gibt, welche mit Sicherheit für chemisch einfache Körper erklärt werden können (man vgl. Tollens, Handbuch der Kohlenhydrate).

Für die Annahme, dass das Amyloid eine einheitliche Substanz ist, spricht zwar die Thatsache, dass die aus Tropaeolum majus dargestellten Amyloidpräparate eben so viel Schleimsäure und Furfurol gaben, wie ein aus Paeonia dargestelltes Präparat. Immerhin ist zuzugeben, dass die Uebereinstimmung eine zufällige gewesen sein kann; eine Entscheidung liesse sich wohl dadurch geben, dass man noch aus anderen Materialien Amyloid darstellte und sodann prüfte, ob auch die bei diesen Darstellungen gewonnenen Präparate eben so viel Schleimsäure und Furfurol geben und eventuell das optische Drehungsvermögen bestimmte. Im Uebrigen darf behauptet werden, dass für die Zwecke, welche man bei derartigen Untersuchungen verfolgt, die Entscheidung der Frage, ob man zu einheitlichen Producten gelangt, nicht als eine überaus wichtige zu bezeichnen ist.

Vergleichung des Amyloids mit anderen Kohlenhydraten.

Das Amyloid ist zu denjenigen Kohlenhydraten zu rechnen, welche Tollens als Saccharo-Colloide bezeichnet (Tollens' Handbuch der Kohlenhydrate). Da das Amyloid im Verhalten zu Jod mit dem Stärkemehl vollständig übereinstimmt, so hatte man wohl bisher fast allgemein angenommen, dass dasselbe ein dem Stärkemehl sehr nahe verwandter Körper ist. Mit völliger Bestimmtheit ist dieses von Trécul[1]) ausgesprochen worden; derselbe sieht die mit Jod sich direct bläuenden Zellmembranen als Uebergang vom amorphen Stärkemehl und

---

[1]) Compt. reud., Bd. 47, S. 687.

eigentlicher Cellulose an. In Uebereinstimmung damit steht es, dass man mit dem Namen Amyloid auch die mit Jod sich blau färbende Substanz bezeichnet, welche man aus Cellulose erhält, indem man letztere mit Schwefelsäure gewisser Concentration behandelt. Auch Reiss[1]) scheint vermuthet zu haben, dass das Amyloid dem Stärkemehl sehr nahe steht, da er auf Grund nicht entscheidender Versuche es für wahrscheinlich erklärt, dass das Amyloid bei der Hydrolyse Traubenzucker liefert[2]).

Aus den von mir erhaltenen Versuchsergebnissen geht nun aber hervor, dass das genannte Kohlenhydrat in chemischer Hinsicht dem Stärkemehl keineswegs so nahe steht. Denn es liefert bei der Hydrolyse entweder gar keinen Traubenzucker oder nur geringe Menge davon; die Hauptproducte der Inversion aber sind andere Glukosen (Galactose und Xylose).

Als interessant darf es wohl bezeichnet werden, dass die Blaufärbung durch Jod auch einem Kohlenhydrat zukommt, welches durch seine Umwandlungsproducte sowohl vom Stärkemehl wie von der Cellulose sich unterscheidet, indessen kann dieser Befund nicht als ein ganz unerwarteter bezeichnet werden. Denn bekanntlich wird z. B. auch das Holzgummi, welches bei der Hydrolyse Xylose liefert, durch Chlorzinkjod oder Jod und Schwefelsäure blau gefärbt; man hat sich also zu denken, dass das Holzgummi durch gewisse Agentien in eine Substanz übergeführt wird, welche durch Jod direct blau gefärbt wird.

Untersuchung des nach Extraction des Amyloids verbleibenden Samenrückstandes.

Aus den im hiesigen Laboratorium ausgeführten Untersuchungen über die Beschaffenheit der pflanzlichen Zellmembran hat sich ergeben, dass sehr viele Pflanzen in ihren Zellwandungen in Wasser unlösliche Kohlenhydrate enthalten, welche beim Kochen mit stark verdünnten Mineralsäuren leicht

[1]) Landwirthschaftliche Jahrbücher, Bd. 18, S. 761.

[2]) Uebrigens lag es nicht im Rahmen der Reiss'schen Arbeit, das Amyloid makrochemisch näher zu untersuchen.

in Lösung gehen und dabei in Glukosen übergeführt werden. Diese Kohlenhydrate sind von E. Schulze als Hemicellulosen bezeichnet worden.

Es schien nun von Interesse, zu prüfen, ob auch die für die vorstehenden Untersuchungen benutzten Samen neben dem Amyloid solche Hemicellulosen enthalten. Zu diesem Zwecke kochte ich die fein gepulverten Samen so lange, unter stetem Wechsel des Wassers, bis sie durch Jod nicht mehr blau gefärbt wurden[1]). Die nach dieser Behandlung verbleibenden Rückstände kochte ich mit verdünnter Schwefelsäure.

Es zeigte sich in der That, dass alle von mir zur Amyloiddarstellung benutzten Objecte bei dieser Behandlung eine zuckerreiche Lösung gaben, woraus hervorgeht, dass in der That neben dem Amyloid noch Hemicellulosen enthalten waren.

Ich habe mich nun bemüht, über die Beschaffenheit dieser Glukosen näheren Aufschluss zu erhalten. Die dabei erhaltenen Resultate theile ich im Folgenden mit.

Samen von Tropaeolum majus.

Wie oben erwähnt worden ist, wurden behufs möglichst vollständiger Extraction des Amyloids die fein gepulverten und zuvor mit Aether, Alkohol etc. behandelten Samen mit Wasser ausgekocht, bis die Samen keine Blaufärbung mehr gaben; die dabei verbleibenden Rückstände dienten für die im Folgenden beschriebenen Versuche.

Ich behandelte diesen Rückstand zunächst noch 2 Tage mit verdünnter (1 procentiger) Natronlauge, wusch ihn sodann bis zum völligen Verschwinden der alkalischen Reaction mit Wasser aus; dann kochte ich 2 Stunden mit 3procentiger Schwefelsäure am Rückflusskühler; ich erhielt so eine rothbraune Lösung, welche, nachdem sie vom Ungelösten getrennt war, weitere 3 Stunden, behufs vollständiger Verzuckerung,

---

[1]) Um aus den feingepulverten Samen (1200 gr.) das Amyloid möglichst vollständig zu entfernen, bedurfte es eines wiederholten Kochens, erst nach dem 15—18 mal mit stets erneuerten Wassermengen gekocht worden war, liess sich unter dem Mikroskop keine Blaufärbung der Samentheilchen mehr erkennen.

gekocht wurde. Ich entfernte nun die Schwefelsäure durch Eintragen von Barythydrat, trennte die Flüssigkeit vom Baryumsulfat und dunstete auf dem Wasserbade zum Syrup ein; letzteren extrahirte ich in der Wärme mit 95 procentigem Weingeist, wobei ein grosser Theil ungelöst blieb; nach 24 Stunden wurde vom Ungelösten abgegossen und die alkoholische Flüssigkeit im Exsiccator zur Verdunstung hingestellt. Ich erhielt auf diese Weise einen dunkelbraunen, nicht rein süss schmeckenden Syrup, der erst nach einigen Monaten zu krystallisiren begann.

Einen Theil dieses Syrups benutzte ich zur Bestimmung der Furfurolausbeute. Ich erhielt hierbei folgende Zahlen:

a) 2 gr. Syrup, 0,7700 gr. Hydrazon = 0,4122 gr. oder 20,61 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzenmenge gab 0,7630 gr. Hydrazon = 0,4189 gr. oder 20,94 % Furfurol.

Den anderen Theil des Syrups liess ich noch einige Wochen stehen. Nachdem die Krystallausscheidung eine bedeutende geworden war, brachte ich die Masse auf eine Thonplatte, übersprühte mehrere Male mit absolutem Alkohol, und krystallisirte schliesslich den so gereinigten Zucker aus 95 procentigem Weingeist um.

Ich erhielt hierbei zwei Krystallfractionen, welche bei der Untersuchung im Polarisationsapparat folgende Resultate ergaben:

I. Fraction. Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,2936 gr. enthielt, drehte im 100 mm.-Rohr 6,7° nach rechts. Daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +78,92°$.

II. Fraction. Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,2256 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr 8° nach rechts. Daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +61,34°$.

Diese beiden Zuckerpräparate gaben bei der Oxydation Schleimsäure, welche bei 212° schmolz. Die quantitative Ausbeute an letzterer habe ich wegen der geringen Substanzenmenge nicht ausgeführt.

Da das Drehungsvermögen des ersten Präparats mit dem der Galactose (+81,58°) nahezu übereinstimmt und dasselbe

bei der Oxydation Schleimsäure liefert, so darf man wohl annehmen, dass dieser Zucker Galactose war.

Die zweite Krystallfraction war wahrscheinlich ein Gemenge von Galactose und einer Pentose (Xylose), wofür die bedeutende Furfurolmenge, welche aus dem Syrup erhalten wurde, spricht.

Samenrückstand von Paeonia officinalis.

Dieser Rückstand, in gleicher Weise wie der von Tropaeolum majus behandelte, lieferte einen hellgelben Zuckersyrup. Der weingeistige Extract gab schon nach einigen Tagen Krystalle; dieselben wurden in bekannter Weise gereinigt, aus Alkohol umkrystallisirt und polarisirt.

Eine Lösung, welche in 10 cbcm. 0,2390 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr 11,2° nach rechts. Daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +81,07°$.

Dieser Zucker gab beim Erhitzen mit Salpetersäure Schleimsäure, welche bei 208° schmolz. Es darf also auch dieser aus Paeoniasamenrückstand erhaltene Zucker für Galactose erklärt werden.

Das neben Galactose aus dem Rückstand noch eine andere Glukose entstanden war, beweist die Ausbeute an Furfurol.

a) 2 gr. Zuckersyrup gaben 0,3030 gr. Hydrazon = 0,1815 gr. oder 9,07 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzenmenge gab 0,2906 gr. Hydrazon = 0,1761 gr. oder 8,80 % Furfurol.

Der Rückstand der Samen von Impatiens Balsamina

lieferte ebenfalls einen rechtsdrehenden Zuckersyrup, der bei der Oxydation mit Salpetersäure Schleimsäure (Schmelzp. 209°) lieferte. Wegen der geringen Menge dieses Syrups habe ich eine weitere Untersuchung nicht ausführen können.

Aus diesen Resultaten geht hervor, dass die Zellwandungen der im Vorigen genannten Samen neben dem durch Wasser extrahirbaren Amyloid auch noch Bestandtheile enthielten, welche dem kochenden Wasser widerstanden, durch verdünnte heisse Mineralsäuren aber unter Glukosebildung in

Lösung übergeführt wurden. Man darf diese Zellwandungen als Hemicellulosen bezeichnen. In Uebereinstimmung damit stehen Angaben Frank's[1]). Derselbe beobachtete, dass bei Tropaeolum majus die secundären Zellmembranen durch kochendes Wasser nicht vollständig gelöst wurden; es blieben gewisse Schichten in einem aufgelockerten Zustand zurück. Dass dies diejenigen Zellschichten waren, welche mir beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure die oben genannten Glukosen gaben, darf wohl für sehr wahrscheinlich erklärt werden.

Bemerkenswerth ist, dass diese neben dem Amyloid sich vorfindenden Hemicellulosen, eben wie das erste bei der Hydrolyse, Galactose und eine Pentose gegeben haben.

Die von mir gewonnenen Resultate liefern nun auch den vollgiltigen Beweis für die in der Einleitung schon ausgesprochene Ansicht, dass der dort erwähnte Versuch von Reiss[2]) keine Entscheidung über die Frage geben konnte, was für Glukosen bei Hydrolyse des Amyloids entstehen. Denn R. Reiss verfuhr ja in der Weise, dass er die amyloidhaltigen Samen in 70% Schwefelsäure eintrug. Es ist aber klar, dass bei diesem Versuch nicht nur das Amyloid in Zucker übergeführt, sondern sowohl die Hemicellulosen als auch die eigentliche Cellulose. Demnach muss der von Reiss dargestellte Zucker durch Umwandlung verschiedener Zellwandbestandtheile entstanden und ein Gemenge mehrerer Glukosen gewesen sein.

Um den directen Beweis für vorstehende Annahme zu liefern, habe ich übrigens den von Reiss angegebenen Versuch wiederholt. Ich trug die gepulverten Tropaeolumsamen, welche zuvor durch Extraction mit Aether, Alkohol, kaltem, verdünnten Ammoniak gereinigt worden waren, in die gleiche Gewichtsmenge 70% Schwefelsäure ein, nach 24 Stunden verdünnte ich die Masse mit Wasser und brachte sie dann auf's Filter. Das Filtrat wurde mit Baryumcarbonat neutralisirt,

---

[1]) Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 95, S. 494.

[2]) Landw. Jahrbücher, S. 748 u. 752.

nach mehrtägigem Stehen vom Niederschlag abfiltrirt und eingedunstet. Den Verdampfungsrückstand erhitzte ich, behufs Inversion, mit 2 procentiger Schwefelsäure eine Stunde im Wasserbade, entfernte die Säure mit Barythydrat und dunstete zur Syrupconsistenz ein. Dieser Syrup gab beim Erhitzen mit 12 procentiger Salzsäure eine beträchtliche Menge Furfurol[1]); es war also in diesem Syrup eine Pentaglukose enthalten, was auch noch durch die Rothfärbung, welche auftrat, als ich einen Theil desselben mit Phloroglucin und Salzsäure erhitzte, bestätigt wurde. Ferner lieferte eine Probe dieses Zuckers beim Erhitzen mit Salpetersäure ein bei 212° schmelzendes Krystallpulver, welches in Wasser sehr schwer löslich war, dieses Oxydationsproduct war demnach Schleimsäure.

R. Reiss gibt an, dass er aus dem in gleicher Weise aus den Samen von Tropaeolum majus dargestellten Zuckersyrup ein Osazon erhalten habe, welches den Schmelzpunkt des Glukosazons (203°) zeigte; aus den von mir erhaltenen Resultaten geht hervor, dass es nur ein Zufall gewesen sein kann, wenn ein Osazon von solchem Schmelzpunkt erhalten wurde.

Wie weiter oben schon mitgetheilt wurde, habe auch ich beim Umkrystallisiren des aus dem Amyloidzucker dargestellten Osazons einmal eine Krystallisation erhalten, welche den Schmelzpunkt 202° zeigte; während das aus obigem Syrup dargestellte bei 185° schmolz.

Die von mir gewonnenen Versuchsergebnisse erbringen den vollgültigen Beweis dafür, dass der vorliegende Zuckersyrup ein Gemenge verschiedener Glukosen war.

---

[1]) L. c., S. 761.

Zur Kenntniss der Muttersubstanzen des Holzgummis.

Von

E. Winterstein.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 27. Juli 1892.)

Mit dem Namen Holzgummi bezeichnet man bekanntlich eine Substanz, welche aus zerkleinertem Holz dargestellt werden kann, indem man letzteres mit kalter 5procentiger Natronlauge behandelt und den vom Ungelösten durch Filtration getrennten Extract mit Weingeist und Salzsäure versetzt, es scheidet sich dann als weisse amorphe Masse aus.

Das Holzgummi ist zuerst von Thomson[1]), dann von Koch[2]) untersucht worden; der Letztere fand, dsss es beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure in Xylose (Holzzucker) übergeht.

Wheeler und Tollens haben diese Versuche wiederholt und das Verhalten der Xylose eingehender studirt[3]). Auch hat Tollens mit mehreren Mitarbeitern den Nachweis erbracht, dass das Holzgummi, welches er auch mit dem Namen Xylan bezeichnet, in vielen anderen vegetabilischen Substanzen enthalten ist.

Bei diesen Untersuchungen ist die Frage nach den Eigenschaften der Muttersubstanz des Holzgummis, das heisst also des bei Einwirkung der kalten verdünnten Natronlauge in Holzgummi übergehenden Bestandtheils des Holzes, nicht näher erörtert worden. Dass das Holzgummi im Holz nicht

---

[1]) Journ. für pract. Chemie, Bd. 17, S. 146—168.

[2]) Pharm. Zeitschrift f. Russland, Jahrg. 25, No. 38—46.

[3]) Ann. d. Chemie, Bd. 254, S. 304.

in derjenigen Form enthalten sein kann, in welcher man es bei der Darstellung nach Thomson's Verfahren erhält, ist aber schon von G. Lange[1]) hervorgehoben worden. «Denn wäre dies der Fall», so sagt der Genannte, «so würde man in der Lage sein, dasselbe mittelst Wasser zu extrahiren, da es darin nicht unlöslich ist. Nun lassen sich aber aus dem Holze mit Wasser niemals auch nur die geringsten Spuren dieses Körpers erhalten; es muss derselbe demnach durch die Einwirkung kalter Natronlauge erst aus einem anderen durch vielleicht nur geringe Umwandlung gebildet werden».

Die im Folgenden beschriebenen Versuche, durch welche ich über obige Frage Aufschluss zu erlangen suchte, wurden durch Beobachtungen, welche E. Schulze bei Ausführung der Untersuchung über die chemische Zusammensetzung der pflanzlichen Zellmembran gemacht und in dieser Zeitschrift publicirt hat, veranlasst.

Der Genannte fand, dass Cellulosepräparate, welche sowohl mit verdünnter Salzsäure ausgekocht, als auch mit F. Schulze'schem Reagenz behandelt worden waren, eine Substanz enthielten, welche bei Behandlung mit kalter 5procentiger Natronlauge in Lösung ging; aus dieser Lösung wurde durch Alkokol ein Product gefällt, welches das Verhalten des Holzgummis zeigte und beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure Xylose lieferte. E. Schulze schliest aus seinen Beobachtungen, dass das Holzgummi (Xylan) in verschiedenen Modificationen in den pflanzlichen Zellwandungen enthalten ist. Während z. B. in den Zellwandungen der Weizenkleie[2]) ein Xylan sich vorfindet, welches durch Kochen mit verdünnten Säuren leicht in Lösung geht, enthalten manche Zellwandungen Modificationen desselben, welche nicht nur der Einwirkung verdünnter Säuren widerstehen, sondern auch durch Maceration mit F. Schulze'schem Reagenz nicht gelöst werden.

---

[1]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 14, S. 17.

[2]) Daneben findet sich ein Araban, das heisst ein in Arabinose übergehender Körper, vor.

Nachdem diese Resultate gewonnen waren, schien es von Interesse, dasjenige Material, welches bisher hauptsächlich zur Darstellung des Holzgummis gedient hat, nämlich Buchenholz, in dieser Richtung zu untersuchen.

Die Ausführung dieser Untersuchung wurde dadurch erleichtert, dass zur Zeit eine sehr brauchbare Methode zur Ermittelung des Gehalts vegetabilischer Substanzen an Xylan oder anderen Pentosanen vorliegt, nämlich diejenige von de Chalmot und Tollens[1]). Sie besteht darin, dass man die zu untersuchende Substanz mit 12procentiger Salzsäure der Destillation unterwirft, im Destillat das Furfurol (nach vorhergegangener Neutralisation mit Soda) durch essigsaures Phenylhydrazin ausfällt und das Hydrazon wägt. Aus der Furfurolmenge lässt sich dann der Gehalt der Substanzen an Pentosanen berechnen.

Das für meine Versuche verwendete Buchenholzmehl wurde, nachdem es durch Absieben von den gröberen Theilen befreit worden war, mit kaltem Wasser, dann mit Alkohol gewaschen und hierauf 12 Stunden bei 50° getrocknet. Dann bestimmte ich in diesem Material den Xylangehalt nach dem oben angegebenen Verfahren.

a) 2 gr. Substanz gaben 0,4914 gr. Hydrazon = 0,2787 gr. oder 13,93 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,4842 gr. Hydrazon = 0,2750 gr. oder 13,75 % Furfurol.

Daraus berechnet sich ein Xylangehalt von 26,46 %.

Ich suchte nun zunächst festzustellen, wie dieses Xylan sich gegen verdünnte Mineralsäuren verhält, zu diesem Zwecke kochte ich das genannte Material 3 Stunden lang mit $1\frac{1}{4}$ % Schwefelsäure, brachte den Rückstand aufs Filter, wusch mit Wasser bis zum vollständigen Verschwinden der Schwefelsäure aus und trocknete wieder 12 Stunden bei 50°; den hierbei erhaltenen Rückstand benutzte ich zur Ermittelung des Xylangehalts.

---

[1]) Ber. der D. chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 3579.

a) 2 gr. Substanz gaben 0,3420 gr. Hydrazon = 0,2016 gr. oder 9,78 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,3500 gr. Hydrazon = 0,2058 gr. oder 10,29 % Furfurol.

Daraus folgt ein Xylangehalt von 18,46 %. Demnach enthält das Buchenholz auch nach Kochen mit 1¼ procentiger Schwefelsäure noch sehr viel Xylan. Um die Menge des in Lösung gegangenen Xylans festzustellen, musste noch der Substanzverlust bestimmt werden, welcher bei Einwirkung 1¼ procentiger Schwefelsäure erfolgt. Derselbe ergibt sich aus folgenden Zahlen zu 17,75 %:

a) 3,1480 gr. Substanz verloren nach 48stündigem Trocknen bei 105° 0,036 gr. = 1,14 %.

b) 2 gr. (lufttrockener) = 1,9772 gr. Trockensubstanz verloren beim Kochen mit 1¼ procentiger Schwefelsäure 0,3520 gr.

c) Die gleiche Substanzmenge verlor beim Kochen mit 1¼ procentiger Schwefelsäure 0,3500.

Aus diesen Zahlen folgt, dass durch dreistündiges Kochen mit 1¼ procentiger Schwefelsäure 4,02 % von dem, im Buchenholz enthaltenen, Xylan gelöst wurden.

Nach dreistündigem Kochen mit 5 procentiger Schwefelsäure enthielt der Rückstand noch 10,16 % Xylan, wie aus folgenden Zahlen zu ersehen ist.

a) 2 gr. Substanz gaben 0,1700 gr. Hydrazon = 0,1129 gr. oder 5,64 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,1676 gr. oder 0,1168 gr. oder 5,58 % Furfurol.

Demnach wurde beim Kochen mit 5 procentiger Säure ein bedeutend grösserer Theil aufgelöst als beim Kochen mit 1¼ procentiger.

Es war nun zweitens festzustellen, wie sich das Xylan des Buchenholzes gegen F. Schulze'sches Reagenz verhält. Zu diesem Zwecke behandelte ich eine Partie des Buchenholzmehles mit genanntem Reagenz und bestimmte einerseits die dabei erfolgende Gewichtsabnahme, andererseits den Furfurolgehalt des Rückstandes.

Ueber die Details dieser Versuche ist Folgendes anzugeben: 5 gr. getrocknetes Buchenholzmehl werden mit 60 gr.

Salpetersäure vom spec. Gew. 1,15 übergossen und in die Masse allmählig 4 gr. Kaliumchlorat eingetragen; das Gemisch wurde 14 Tage in einem lose verschlossenen Gefäss bei Zimmertemperatur stehen gelassen; die Säure wurde dann durch Auswaschen mit Wasser entfernt, der Rückstand $^3/_4$ Stunden mit verdünntem Ammoniak auf 60° erwärmt, dann zuerst durch Deccantation, schliesslich auf dem Filter ausgewaschen und der Rückstand bei 105° getrocknet.

Aus 100 Theilen Buchholzmehl erhielt ich im Mittel 53% Cellulose. Die Furfurolbestimmung in dieser Cellulose gaben folgende Resultate:

2 gr. Substanz gaben 0,2200 gr. Hydrazon = 0,1387 gr. oder 6,93% Furfurol.

Die gleiche Substanzmenge gab 0,2160 gr. Hydrazon = 0,1366 gr. oder 6,83% Furfurol.

Aus diesen Zahlen ergibt sich, dass 21,83% des Xylans der Wirkung des Schulze'schen Reagenz widerstanden hatten.

Um festzustellen, ob etwa das Xylan bei längerer Maceration mit F. Schulze'schem Reagenz vollständiger zerstört werde, habe ich die bei der ersten Behandlung mit F. Schulze-schem Reagenz erhaltene Cellulose noch 14 Tage lang der gleichen Behandlung unterworfen und den dabei erhaltenen Rückstand zur Furfurolbestimmung verwendet. Ich erhielt nun folgende Resultate:

a) 2 gr. Substanz gaben 0,1800 gr. Hydrazon = 0,1180 gr. oder 5,90% Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,1750 gr. Hydrazon = 0,9282 gr. oder 4,64% Furfurol.

Die zweimal mit F. Schulze'schem Reagenz behandelte Cellulose gab also eben so viel Furfurol wie die einmal behandelte, woraus zu schliessen ist, dass in der That eine Furfurol gebende Substanz vorhanden war, welche dem genannten Reagenz Widerstand leistete.

Um nun aber mit Bestimmtheit behaupten zu können, dass diese Furfurol gebende Substanz Xylan (Holzgummi) ist, musste erstens festgestellt werden, dass sie durch verdünnte Natronlauge extrahirt werden konnte und zweitens bei der Hydrolyse Xylose lieferte.

Um diese Frage zu entscheiden, bedurfte ich einer grösseren Materialmenge; ich stellte mir daher in der beschriebenen Weise 400—500 gr. Buchenholzcellulose dar. 350 gr. dieser Cellulose wurden sodann mit 1 Liter 5procentiger Natronlauge einige Tage unter öfterem Schütteln in Berührung gelassen, dann auf ein Filtrirtuch gebracht, mit etwas kaltem Wasser nachgewaschen und der Filterinhalt gut ausgepresst; die so erhaltene klare alkalische Flüssigkeit versetzte ich mit Alkohol und concentrirter Salzsäure bis zur schwach sauren Reaction. Nachdem die amorphe weisse Füllung sich zu Boden gesetzt hatte, wurde die darüber stehende Flüssigkeit abgehebert und der Niederschlag noch einmal auf diese Weise mit Alkohol und etwas Salzsäure ausgewaschen, dann unter absoluten Alkohol gebracht, nach eintägigem Stehen wurde vom Alkohol abfiltrirt, der Rückstand auf dem Filter mit Aether ausgewaschen und schliesslich vor der Saugpumpe von demselben befreit. Ich erhielt so eine weisse, leicht zerreibliche Masse, die das Verhalten des Holzgummis zeigte.

Behufs Inversion der so dargestellten Substanz (Holzgummi) kochte ich 5 gr. derselben mit 100 cbcm. 2procentiger Schwefelsäure 5 Stunden am Rückflusskühler, wobei nur ein geringer Theil ungelöst blieb. Die mittelst Baryts entsäuerte Flüssigkeit dunstete ich auf dem Wasserbade zum Syrup ein und extrahirte denselben in der Wärme mit 95procentigem Weingeist. Der alkalische Extract lieferte schon am dritten Tage warzenförmige Krystalle; dieselben wurden, um die Mutterlauge zu entfernen, auf eine poröse Thonplatte gestrichen und einige Male mit absolutem Alkohol umkrystallisirt. Ich erhielt so schöne weisse Nadeln; diese Krystalle besassen die Eigenschaften der Xylose.

Die Untersuchung im Polarisationsapparat gab folgendes Resultat: Eine wässerige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,2530 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte nach 24stündigem Stehen im 200 mm.-Rohr 6,8° nach rechts[1]). Daraus berechnet sich

---

[1]) Die frisch hereitete Lösung drehte 18,2°; der Zucker zeigte also Mehrdrehung.

$(\alpha)_D = +18{,}77°$. Diese Zahl stimmt mit dem für das Drehungsvermögen der Xylose angegebenen Werth $(\alpha)_D = +18$ bis $+19°$ überein, so dass die Annahme, es habe Xylose vorgelegen, für eine berechtigte erklärt werden kann, zumal da auch die übrigen Eigenschaften des bezüglichen Präparats dieser Annahme entsprechen. Denn dasselbe gab beim Kochen mit Phloroglucin und Salzsäure eine kirschrothe Flüssigkeit, lieferte beim Erhitzen mit 12procentiger Salzsäure viel Furfurol. Der Schmelzpunkt der Krystalle lag bei 145°[1]). Das durch Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin dargestellte Osazon schmolz, schnell erhitzt, bei 160,5°[2]).

Diese Resultate beweisen also, dass in dem bei Behandlung mit F. Schulze'schem Reagenz verbliebenen Rückstand (Cellulose) des Buchenholzmehles noch Xylan vorhanden war. Daraus ergibt sich dann weiter, dass das Xylan im Buchenholzmehl in mindestens zwei verschiedenen Modifikationen vorhanden ist. Die eine wird beim Kochen mit verdünnten Säuren oder durch das F. Schulze'sche Reagenz zerstört, die andere widersteht den Einwirkungen dieser Reagentien.

Koch[3]) gibt an, dass durch das Schulze'sche Reagenz das Holzgummi bis zu 91% zerstört wird. Diese Angabe bezieht sich aber, wie aus seiner Abhandlung zu ersehen ist, auf das aus der alkalischen Lösung vermittelst Alkohol und Salzsäure gefällte Holzgummi, nicht aber auf die Muttersubstanz desselben. Dass diese Muttersubstanz bei Einwirkung der kalten verdünnten Natronlauge Veränderung erleidet, geht auch aus den von mir mitgetheilten Thatsachen hervor; wie ich oben gezeigt habe, wird das aus dem alkalischen Extracte durch Weingeist und Salzsäure gefällte

---

[1]) Tollens (Landw. Versuchstationen, Bd. 39, S. 439) fand den Schmelzpunkt der Xylose neuerdings bei 150—153°, nach früheren Beobachtungen 144—145°.

[2]) Nach Tollens (l. c., S. 440) schmilzt Xylosazon bei 160°.

[3]) Pharm. Zeitschrift f. Russland, Jahrg. 25, No. 38—46. Der Gewichtsverlust des Holzgummis aus Quebracholz betrug nach 6tägiger Maceration a) 90,17, b) 91,56%.

Product schon durch Kochen mit 2procentiger Säure in Lösung übergeführt.

Bemerkenswerth ist, dass das in der Buchenholzcellulose vorhandene Xylan durch 5procentige Natronlauge nur langsam ausgezogen wird. Den Beweis hierfür liefern folgende Versuche: ein Präparat dieser Cellulose, welche 6,88 % Furfurol = 12,46 % Xylan enthielt — lieferte, wurde zweimal mit kalter verdünnter Natronlauge in Berührung gelassen[1]). Die bei dieser Behandlung, nach Auswaschen und Trocknen, verbliebenen Rückstände gaben bei der Furfurolbestimmung folgende Zahlen:

1. Buchenholzcellulose einmal mit kalter 5procentiger Natronlauge behandelt.

a) 2 gr. Substanz gaben 0,0890 gr. Hydrazon = 0,0721 gr. oder 3,60 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,0820 gr. = 0,0675 gr. oder 3,38 % Furfurol.

2. Buchenholzcellulose zweimal mit kalter 5procentiger Natronlauge behandelt.

a) 2 gr. Substanz gaben 0,0344 gr. Hydrazon = 0,0429 gr. oder 2,14 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,0430 gr. = 0,0472 gr. oder 2,36 % Furfurol.

Auch 10procentige Natronlauge zieht das Xylan unvollständig aus; ein Cellulosepräparat mit kalter Natronlauge angegebener Concentration behandelt, gab im Mittel noch 1,98 % Furfurol.

Alle die im Vorigen genannten Cellulosepräparate, welche Furfurol lieferten, gaben beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure die der ungelösten Substanz anhaftende violettrothe Färbung, welche von E. Schulze beschrieben worden ist[2]).

In völliger Uebereinstimmung mit den an der Buchenholzcellulose gemachten Beobachtungen stehen auch Resultate, welche für eine aus den Schalen der Lupinensamen dargestellten Cellulose erhalten wurden. Von diesen Resultaten seien hier folgende erwähnt.

[1]) Die Dauer der Einwirkung betrug jedesmal 3 Tage.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 429.

Eine aus dem genannten Material dargestellte Cellulose, welche 5,62 % Furfurol gab, wurde noch einmal 14 Tage mit F. Schulze'schem Reagenz behandelt und zur Furfurolbestimmung verwendet. Ich erhielt nun folgende Resultate:

a) 2 gr. Substanz gaben 0,1010 gr. Hydrazon = 0,0773 gr. oder 3,86 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,1040 gr. — 0,0788 gr. oder 3,94 % Furfurol.

Demnach war auch hier bei der zweimaligen Behandlung mit dem F. Schulze'schen Reagenz nur ein Theil von der Furfurol gebenden Substanz (Xylan) zerstört worden.

Es liess sich ferner feststellen, dass das Xylan durch verdünnte Natronlauge nur äusserst langsam in Lösung ging, wie aus folgenden Zahlen ersichtlich ist.

Dasjenige Cellulosepräparat, welches im Mittel 6,63 % Furfurol lieferte, gab nach mehrtägiger Behandlung mit 5procentiger Natronlauge folgende Furfurolmengen:

a) 2 gr. Substanz gaben 0,1374 gr. Hydrazon = 0,0961 gr. oder 4,80 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,1450 gr. Hydrazon = 0,0100 gr. oder 5,00 % Furfurol.

Das gleiche Präparat zweimal mit 5 procentiger Natronlauge extrahirt gab bei der Furfurolbestimmung folgende Resultate:

a) 2 gr. Substanz gaben 0,1130 gr. Hydrazon = 0,0835 gr. oder 4,17 % Furfurol.

b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,1210 gr. Hydrazon = 0,0876 gr. oder 4,38 %.

Die aus dem Buchenholzmehl und den Schalen der Lupinensamen dargestellten Präparate verhielten sich also ganz ähnlich. Es ist also in diesen Präparaten eine bei der Hydrolyse in Xylose übergehende Substanz enthalten, welche in der Resistenzfähigkeit gegen Agentien der gewöhnlichen Cellulose gleicht. Da dieselbe nun ferner mit letzterer zweifellos die Löslichkeit in Kupferoxydammoniak und einem Gemisch von Chlorzink und Salzsäure theilt, so ist man wohl berechtigt,

diese Substanz für eine Modification der Cellulose zu erklären. Es ist möglich, dass diese Substanzen in chemischer Verbindung mit der Cellulose vorhanden ist. Die gleiche Ansicht spricht Tollens und E. Schulze aus[1]). Auch ist es denkbar, dass im Holz ebenso wie die Cellulose auch die Xylan liefernde Substanz in Verbindung mit den inkrustirenden Substanzen sich vorfindet (vergleiche W. Hoffmeister, Versuchst., Bd. 39, S. 462).

[1]) Versuchstat., Bd. XXXXI, S. 378.

Ueber das Verhalten der Cellulose gegen verdünnte Säuren und verdünnte Alkalien.

Von

E. Winterstein.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 27. Juli 1892.)

Durch die Untersuchungen E. Schulze's und seiner Mitarbeiter ist nachgewiesen worden, dass viele pflanzliche Zellwandungen Kohlenhydrate enthalten, welche gegen Säuren sehr wenig widerstandsfähig sind. Diese von dem Genannten als Hemicellulosen bezeichneten Kohlenhydrate gehen unter Glukosebildung in Lösung, wenn man die betreffenden Zellwandungen mit 1—2procentiger Schwefelsäure oder Salzsäure erhitzt, während Cellulose zurückbleibt. Es erschien nun wünschenswerth, über den Grad der Widerstandsfähigkeit, welchen die Cellulosen gegen stark verdünnte Mineralsäuren besitzen, noch einige Versuche zu machen; denn die darüber in der Fachlitteratur gemachten älteren Angaben beziehen sich nur auf Baumwolle oder Papiercellulose. Es kann aber kaum für statthaft erklärt werden, die für diese Materialien erhaltenen Resultate als allgemein giltig anzunehmen.

Für meine Versuche benutzte ich Proben der Cellulosepräparate, welche für die von E. Schulze ausgeführten und in dieser Zeitschrift publicirten Untersuchungen verwendet worden waren. Hinsichtlich der Darstellung derselben kann auf die oben genannte Abhandlung verwiesen werden[1]); doch ist hier zu bemerken, dass die von mir verwendeten Cellulosepräparate sämmtlich mit F. Schulze'schem Reagenz behandelt worden waren.

Ich prüfte zunächst die Widerstandsfähigkeit der Cellulosen gegen $1^1/_4$procentige Schwefelsäure. Diese Concentration

[1]) Einige Cellulosen waren nicht mit Schulze'schem Reagenz behandelt.

wurde gewählt, weil Säure gleicher Stärke bei der Rohfaserbestimmung in Anwendung kommt und bei den früheren Versuchen (vergl. weiter unten) benutzt wurde.

Die Ausführung dieser Versuche geschah in folgender Weise: Eine abgewogene Menge lufttrockener Cellulose, deren Feuchtigkeitsgehalt durch 48stündiges Austrocknen bei 105° bestimmt worden war, wurde in einem 500 cbcm. fassenden Erlenmeyerkolben eine Stunde mit 200 cbcm. 1¼ procentiger Schwefelsäure am Rückflusskühler gekocht, das Ungelöste nach Erkalten der Flüssigkeit auf ein bei 105° getrocknetes und gewogenes Filter gebracht, und der Rückstand auf dem Filter bis zum völligen Verschwinden der Schwefelsäure mit Wasser ausgewaschen. Das Filter wurde nun sammt Inhalt bei 105° bis zum constanten Gewicht getrocknet[1]) und dann gewogen.

Ausser der bei dieser Behandlung erfolgenden Gewichtsabnahme der Cellulose suchte ich noch die Zuckermenge, welche aus dem bei Einwirkung der verdünnten Schwefelsäure in Lösung gegangenen Antheil der Cellulose sich bildete, zu bestimmen. Zu diesem Zwecke wurde das Filtrat nebst den ersten Antheilen des Waschwassers auf 150 cbcm. eingeengt und diese Flüssigkeit behufs Vollendung der Verzuckerung noch weitere 2 Stunden gekocht, dann mit Natronhydrat neutralisirt und die Zuckermenge nach der Allihn'schen Methode bestimmt. Es zeigte sich aber, dass die in dieser Weise gefundene Dextrosmenge in keinem Falle diejenige Quantität erreichte, welche aus der in Lösung gegangenen Cellulose sich hätte bilden können.

Cellulose aus:	Verlust durch 1¼ procentige Schwefelsäure.	Dextrose in der Lösung.
Tannenholz	1,56	0,86
Weizenkleie	1,62	0,90
Rothklee	2,76	1,83
Schalen der Lupinensamen, Sorte I	0,90	0,50
Schalen der Lupinensamen, Sorte II	1,76	1,44
Kaffee	2,96	2,45
Lupinensamen	2,39	2,07

[1]) Was nach 48stündigem Trocknen immer der Fall war.

Zu diesen Angaben ist noch zu bemerken, dass die Kaffeecellulose neben dem Traubenzucker auch Mannose lieferte. Die Cellulosen aus Tannenholz, Weizenkleie und Rothklee gaben nur Dextrose; die Lupinenschalencellulose lieferte Dextrose und etwas Xylose.

Vergleicht man die von mir gefundenen Zahlen mit den früheren Angaben, so ergibt sich kein grosser Unterschied. Kühn, Aronstein und Schulze[1]) fanden, dass bei $^1/_2$stündigem Kochen mit $1^1/_4$procentiger Schwefelsäure im Mittel 0,83 % von der organischen Substanz des Papieres gelöst wurden. E. Kern[2]) fand bei den gleichen Versuchen einen Verlust von 1 %. Nach Flechsig[3]) wird durch 3stündiges Kochen mit 2procentiger Schwefelsäure nur 1,05 % invertirt.

Weiter stellte ich noch Versuche mit Cellulosepräparaten an, welche einige Zeit mit 5procentiger Natronlauge in Berührung gewesen waren. Ich erhielt für diese Cellulosen folgende Zahlen:

Cellulose aus:	Verlust durch $1^1/_4$procentige Schwefelsäure.	Dextrose.
Tannenholz	2,52 %	1,66
Kaffee	2,48 %	1,48

Diese Zahlen beweisen, dass die Art der Behandlung der Cellulose nicht ohne Einfluss auf ihr Verhalten gegen verdünnte Säuren ist. Dies ist auch aus nachstehenden Zahlen zu ersehen: Bei einstündigem Kochen mit $1^1/_4$procentiger Schwefelsäure wurde von Cellulose, welche vorher 48 Stunden bei 105° getrocknet wurde, mehr gelöst[4]).

---

[1]) Journ. f. Landwirthschaft, Bd. 10, S. 304.

[2]) Ebendas, Bd. 24, S. 29.

[3]) Diese Zeitschrift, Bd. 7, S. 523.

[4]) Wie Aronstein, Kühn und Schulze (l. c.) gefunden haben, wird getrocknete Papiercellulose von Schulze'schem Reagenz mehr angegriffen.

Cellulose aus:	Verlust durch $1^1/_4$ procentige Schwefelsäure.	Dextrose.
Lupinenschalen	2,14 %	1,60
Tannenholz	1,78 %	0,99

Durch einstündiges Kochen mit 5 procentiger Schwefelsäure wurde beträchtlich mehr als durch $1^1/_4$ procentige Säure gelöst, wie nachstehende Zahlen beweisen. Nach Aronstein, Kühn und Schulze wurde durch $^1/_2$ stündiges Kochen mit 5 procentiger Schwefelsäure 1,46 % gelöst.

Cellulose aus:	Verlust.	Dextrose.
Tannenholz	4,55 %	3,23
Lupinenschalen	4,29 %	—
Buchenholz	4,99 %	3,20
Kaffee	8,39 %	6,58

Um das Verhalten der Cellulose gegen Salpetersäure zu prüfen, erwärmte ich eine abgewogene Menge Substanz (2 gr.) mit 100 cbcm. Salpetersäure vom spec. Gew. 1,15 $^1/_2$ Stunde auf 60°. Nach dem Erkalten der Masse wurde mit viel Wasser verdünnt, der Rückstand auf ein bei 105° getrocknetes und gewogenes Filter gebracht, dann bis zum völligen Verschwinden der Säure ausgewaschen und das Filter nebst Inhalt 48 Stunden bei 105° getrocknet.

Cellulose aus:	Verlust.
Tannenholz	3,43 %
Lupinenschalen	5,39 %
Buchenholz	6,99 %

Aus den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen, welche in recht guter Uebereinstimmung mit den von Anderen für Papiercellulose erhaltenen Ergebnissen stehen, geht hervor, dass die Cellulosen eine sehr bedeutende Widerstandsfähigkeit gegen stark verdünnte heisse Mineralsäuren besitzen. Sie unter-

scheiden sich in dieser Hinsicht sehr bedeutend von denjenigen Zellwandbestandtheilen, welche von E. Schulze als Hemicellulosen bezeichnet werden; denn die letzteren lassen sich schon durch Erhitzen mit 1—2procentiger Schwefelsäure oder Salzsäure rasch in Lösung bringen.

Ausser dem Verhalten der Cellulosen gegen verdünnte Mineralsäuren habe ich auch ihr Verhalten gegen 5procentige Natronlauge untersucht. Man benutzt Laugen solcher Concentration, um das Holzgummi (Xylan) zu extrahiren. Es ist nun wünschenswerth zu wissen, wie sich andere Bestandtheile der Cellulosepräparate gegen dieses Lösungsmittel verhalten. Allerdings liegen schon Versuche von Koch[1]) und Hoffmeister[2]) vor; es war aber von Interesse, auch die für meine Versuche benutzten Cellulosepräparate in dieser Hinsicht zu prüfen.

Bei Ausführung dieser Versuche wurden abgewogene Mengen Substanz mit 100 cbcm. kalter 5procentiger Natronlauge übergossen und unter öfterem Schütteln 4 Tage in Berührung gelassen; darauf wurde mit viel Wasser verdünnt, zuerst durch Decantation, schliesslich auf dem Filter bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction ausgewaschen.

Cellulose aus:	Verlust.
Tannenholz	3,96 %
Stroh	6,45 %
I. Lupinenschalen	10,34 %
II. Lupinenschalen	10,52 %
Buchenholz	17,38 %

Unter den durch verdünnte Natronlauge gelösten Stoffen befinden sich neben Holzgummi (Xylan) zweifellos noch andere Bestandtheile. Berechnet man nämlich aus der Furfurolmenge, welche die ursprüngliche Substanz und die bei Behandlung mit 5procentiger Natronlauge verbleibenden Rückstände geben, den Xylangehalt dieser Substanzen, so deckt sich die Differenz

[1]) Pharmaceut. Zeitschrift f. Russland, Jahrg. 25, No. 38—46.

[2]) Landwirth. Jahrbücher, Bd. 17, S. 239—266.

nicht mit der in Lösung gegangenen Substanzmenge. Bei der Cellulose aus Lupinenschalen z. B. hatte sich der Xylangehalt um 4,25 verringert, während der Substanzverlust 10,34 % betrug. Desgleichen aus der Buchenholzcellulose. Hier hatte sich der Xylangehalt um 6,3 % vermindert, während beim Behandeln mit 5procentiger kalter Natronlauge 17,38 % in Lösung gingen.

Noch stärker als durch 5procentige Lauge werden die Cellulosen durch 10procentige angegriffen, wie aus nachstehenden Zahlen ersichtlich ist.

Cellulose aus:	Verlust.
Lupinenschalen	37,07 %
Buchenholz	31,01 %
Tannenholz	45,05 %

Diese Resultate stimmen mit denjenigen Koch's[1]) und Hoffmeister's[2]) überein. Der Erstere fand, dass Cellulose aus Eichenholz bei Behandlung mit 10procentiger Lauge einen Verlust von 40,4 %, einer Cellulose aus Wachholderholz einen Verlust von 43,22 % erlitten. Weitere Versuche führten ihn aber zur Schlussfolgerung, dass nur nach vorhergegangener Behandlung mit F. Schulze'schem Reagenz die Cellulose durch Laugen stark angegriffen wird.

Auch Hoffmeister gibt an, dass die Cellulose, welche nach seinem Verfahren (Behandlung der fein zerkleinerten Pflanzenbestandtheile mit Salzsäure vom spec. Gew. 1,05 und Kaliumchlorat) dargestellt ist, erst durch diese Behandlung theilweise in verdünnter Natronlauge löslich wird.

Analytische Belege.

Einwirkung von $1^1/_4$ procentiger Schwefelsäure auf Cellulose aus:

1. Tannenholz. a) 2,5000 gr. verloren beim Trocknen 0,1112 gr. b) 2,5000 gr. verloren durch $1^1/_4$ procentige Schwefel-

[1]) Pharmaceut. Zeitschrift f. Russland, Jahrg. 25, No. 38—46.
[2]) Landwirth. Jahrbücher, Bd. 17, S. 239—266.

säure 0,1500 gr. c) 2,5000 gr. verloren durch $1^1/_4$procentige Schwefelsäure 0,1484 gr. Verlust = 1,56 %.

Dextrosebestimmung. a) 0,0384 gr. Cu = 0,0203 gr. Dextrose. b) 0,0392 gr. Cu = 0,0205 gr. Dextrose oder 0,86 %.

2. Weizenkleie. a) 2,3634 gr. verloren beim Trocknen 0,0866 gr. b) 2,5000 gr. verloren durch $1^1/_4$procentige Schwefelsäure 0,1327 gr. c) 2,5000 gr. verloren durch $1^1/_4$procentige Schwefelsäure 0,1287 gr. = 1,56 % Verlust.

Dextrosebestimmung. a) 0,0430 gr. Cu = 0,0224 gr. Dextrose. b) 0,0402 gr. Cu = 0,0209 gr. oder 0,90 % Dextrose.

3. Rothklee. a) 2 gr. Trockensubstanz verloren durch $1^1/_4$procentige Schwefelsäure 0,0520 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,0584 gr. = 2,76 % Verlust.

Dextrosebestimmung. a) 0,0618 gr. Cu = 0,0316 gr. Dextrose. b) 0,0820 gr. Cu = 0,0418 gr. Dextrose oder 1,83 %.

4. Lupinenschalen, Sorte I. a) 1,7261 gr. verloren beim Trocknen 0,0565 gr. b) 2,500 gr. verloren durch $1^1/_4$procentige Schwefelsäure 0,1030 gr. c) 2,5000 gr. verloren durch $1^1/_4$procentige Schwefelsäure 0,1044 gr. = 0,90 % Verlust.

Dextrosebestimmung. a) 0,0186 gr. Cu = 0,0104 gr. Dextrose. b) 0,0261 gr. Cu = 0,0140 gr. Dextrose oder 0,50 %.

5. Lupinenschalen, Sorte II. a) 1,888 gr. Trockensubstanz verloren durch $1^1/_4$procentige Schwefelsäure 0,0330 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor durch $1^1/_4$procentige Schwefelsäure 0,0340 gr. = 1,76 % Verlust.

Dextrosebestimmung. a) 0,0528 gr. Cu = 0,0273 gr. Dextrose oder 1,44 %.

6. Lupinensamen. a) 2,6280 gr. Substanz verloren beim Trocknen 0,1994 gr. b) 2,5000 gr. verloren durch $1^1/_4$procentige Schwefelsäure 0,2510 gr. c) 2,5000 gr. verloren durch $1^1/_4$procentige Schwefelsäure 0,2480 gr. = 2,30 % Verlust.

Dextrosebestimmung. 0,099 gr. Cu = 0,05040 gr. Dextrose oder 2,07 %.

7. Kaffee. a) 2,5000 gr. verloren beim Trocknen 0,3174 gr. b) 2,5000 gr. verloren durch $1^1/_4$ procentige Schwefelsäure 2,1174 gr. c) 2,5000 gr. verloren durch $1^1/_4$ procentige Schwefelsäure 2,1186 gr. = 2,96 % Verlust.

Dextrosebestimmung. a) 0,1060 gr. Cu = 0,0540 gr. Dextrose. b) 0,1042 gr. Cu = 0,0530 gr. Dextrose = 2,45 %.

8. Tannenholz mit Natron behandelt. a) 0,9870 gr. Trockensubstanz verloren durch $1^1/_4$ procentige Schwefelsäure 0,0255 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,0246 gr. = 2,52 % Verlust.

Dextrosebestimmung. a) 0,0310 gr. Cu = 0,0165 gr. Dextrose. b) 0,0294 gr. Cu = 0,0152 gr. Dextrose = 1,66 %.

9. Kaffee mit Natron behandelt. 1,2176 gr. Trockensubstanz verloren durch $1^1/_4$ proc. Schwefelsäure 0,0302 = 2,48 % Verlust.

Dextrosebestimmung. 0,0340 gr. Cu = 0,0180 gr. Dextrose = 1,48 %.

10. Tannenholz 48 Stunden bei 105° getrocknet. 1,5096 gr. Trockensubstanz verloren 0,0270 gr. = 1,78 % Verlust.

Dextrosebestimmung. 0,0280 gr. Cu = 0,0150 gr. Dextrose = 0,99 %.

11. Lupinenschalen 48 Stunden getrocknet. a) 1,8271 gr. Trockensubstanz verloren durch $1^1/_4$ procentige Schwefelsäure 0,0366 gr. b) 2,0938 gr. verloren durch $1^1/_4$ procentige Schwefelsäure 0,0478 gr. = 2,14 % Verlust.

Dextrosebestimmung. a) 0,0534 gr. Cu = 0,0361 gr. Dextrose. b) 0,0688 gr. Cu = 0,0276 gr. Dextrose = 1,60 %.

Einwirkung von 5procentiger Schwefelsäure auf Cellulose aus:

1. Tannenholz. a) 2,3888 gr. Trockensubstanz verloren durch 5procentige Schwefelsäure 0,1090 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,1088 gr. = 4,55 % Verlust.

Dextrosebestimmung. a) 0,1514 gr. Cu = 0,0772 gr. Dextrose. b) 0,1505 gr. Cu = 0,0768 gr. Dextrose = 3,22 %.

2. Lupinenschalen. 1,888 gr. Trockensubstanz verloren 0,08100 gr. = 4,29 % Verlust.

3. Kaffee. 2,2181 gr. Trockensubstanz verloren 0,1859 gr. = 8,39 % Verlust.

Dextrosebestimmung. 0,3000 gr. Cu = 0,1565 gr. Dextrose = 6,58 %.

4. Buchenholz. a) 1,9308 gr. Trockensubstanz verloren 0,0950 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,0970 gr. = 4,99 % Verlust.

Dextrosebestimmung. 0,1456 gr. Cu = 0,0742 gr. Dextrose = 3,83 %.

Einwirkung von Salpetersäure vom spec. Gew. 1,15 auf Cellulose aus:

1. Tannenholz. a) 2,3888 gr. Trockensubstanz verloren 0,0844 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,0798 gr. = 3,43 % Verlust.

2. Lupinenschalen. a) 1,9346 gr. Trockensubstanz verloren 0,1061 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,1063 gr. = 5,39 % Verlust.

3. Buchenholz. a) 1,9308 gr. Trockensubstanz verloren 0,1330 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,1358 gr. = 6,99 % Verlust.

Einwirkung von 5procentiger Natronlauge auf Cellulose aus:

1. Tannenholz. 4,7776 gr. Trockensubstanz verloren 0,1892 gr. = 3,96 % Verlust.

2. Stroh. 1,8691 gr. Trockensubstanz verloren 0,1275 gr. = 6,80 % Verlust.

3. Lupinenschalen. 1,8676 gr. Trockensubstanz verloren 0,1932 gr. = 10,34 % Verlust.

4. Stroh. a) 2,8036 gr. Trockensubstanz verloren 0,1808 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,1806 gr. = 6,45 % Verlust.

5. Buchenholz. a) 1,9308 gr. Trockensubstanz verloren 0,3312 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,3398 gr. = 17,33 % Verlust.

6. Lupinenschalen, Sorte II. a) 2,8023 gr. Trockensubstanz verloren 0,3008 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,2435 gr. = 10,52 % Verlust.

Einwirkung von 10procentiger Natronlauge auf Cellulose aus:

1. Lupinenschalen. a) 1,888 gr. Trockensubstanz verloren 0,6986 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,7010 gr. = 37,07 % Verlust.

2. Buchenholz. a) 1,9308 gr. Trockensubstanz verloren 0,7145 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,7149 gr. = 37,01 % Verlust.

3. Tannenholz. a) 1,8156 gr. Trockensubstanz verloren 0,8150 gr. b) Die gleiche Substanzmenge verlor 0,8211 gr. = 45,05 % Verlust.

Zur Kenntniss der Darmfäulniss.

Von

Carl Schmitz.

(Vorläufige Mittheilung aus dem Laboratorium von Prof. Baumann in Freiburg i. B.)
(Der Redaction zugegangen am 7. August 1892.)

Von Pöhl[1]), Biernacki[2]), Rovighi[3]), Winternitz[4]) ist die merkwürdige Thatsache festgestellt worden, dass bei Milch- oder Kefyrdiät die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren im Harn sehr bedeutend herabgesetzt wird. Rovighi glaubt die Erklärung dieser Erscheinung in der desinficirenden Wirkung der Milchsäure zu finden. In der That gelang es ihm durch Einnahme von 15 gr. Milchsäure an je drei auf einander folgenden Tagen eine mässige Verminderung der Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren herbeizuführen, welche aber dem Einfluss des Kefyrs auf die Darmfäulniss bei Weitem nachsteht. Auch Winternitz schreibt der Bildung von Milchsäure bei der Milchdiät einen wesentlichen Einfluss auf die Herabsetzung der Darmfäulniss zu.

Auf Veranlassung von Herrn Prof. Baumann habe ich schon seit längerer Zeit mit dem Studium dieser Frage mich beschäftigt und bin dabei zu Ergebnissen gelangt, die sich in folgenden Sätzen zusammenfassen lassen:

1. Bei Fütterungsversuchen mit Milchzucker, welcher der gewöhnlichen Nahrung zugesetzt wurde, trat keine

---

[1]) Nach Maly's Jahresbericht, 1887, S. 277.
[2]) Deutsches Archiv für klin. Medizin, Bd. 49, Heft 1.
[3]) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. XVI, S. 43.
[4]) Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. XVI, S. 475.

merkbare Herabminderung in der Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren ein.

2. Zugabe von freier Salzsäure zum Futter bewirkt beim Hunde keine Verminderung der Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren.
3. Beim Menschen bewirkt die Zufuhr von freier Salzsäure in Quantitäten von 40—50 Tropfen einer 10procentigen Lösung während eines Tages eine merkliche Herabsetzung der Darmfäulniss, die an einigen Tagen eine Abnahme von 40% erfuhr. Dieses Resultat steht in Uebereinstimmung mit den Versuchen von Biernacki[1]).
4. Derjenige Bestandtheil in der Milch und in dem Kefyr, welcher auf die Herabminderung der Aetherschwefelsäuren im Harn von grösstem Einfluss ist, ist nach meinen Beobachtungen der Käsestoff.

Diese letztere Thatsache lässt sich sehr leicht feststellen, wenn man einem Hunde eine grössere Menge von dem frisch gefällten Käsestoff der Milch, wie er fast ganz rein (mit wenig Fett gemengt) im Topf- oder Napfkäse vorliegt, an Stelle des sonstigen Futters gibt. Dabei sinkt die absolute Menge der Aetherschwefelsäuren in der Regel auf ein Drittel des gewöhnlichen Werthes herab. Lässt man nun den Hund einige Tage hungern und gibt ihm dann den Käse in noch grösseren Mengen zu fressen, so sinkt die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren auf ein Minimum. In einem Falle is es mir sogar gelungen, die Ausscheidung der Aetherschwefelsäuren auf diesem Wege gänzlich zu unterdrücken. Dies ist ein Resultat, welches, wie Baumann gezeigt hat, beim Hunde sonst nur dadurch erreicht werden kann, dass man den Darm durch grosse Dosen Calomel vollständig entleert und desinficirt. Es ist bis jetzt kein Stoff unter der grossen Zahl der Desinfectionsmittel bekannt, welcher die Fäulnissprocesse des mit Nährstoffen gefüllten Darmes so stark herabsetzen kann, wie die Fütterung mit frischem Käse. Die Frage, auf

[1]) Deutsches Archiv für klinische Medizin, Bd. 49, Heft 1.

welche Ursache diese an sich höchst auffällige Wirkung eines Eiweisskörpers im Darmcanal zurückzuführen ist und in wie weit dabei die in der Milch und dem frischen Käse enthaltenen Bacterien[1]) auf die Unterdrückung der gewöhnlichen Fäulnissprocesse im Darm von Einfluss ist, kann eingehend erst erörtert werden, wenn die Reihen von Versuchen, welche ich mit dieser Substanz am Thier und am Menschen angestellt habe, völlig vorliegen.

Da ich jetzt genöthigt bin, meine Arbeit auf einige Zeit einzustellen, möchte ich durch diese vorläufige Mittheilung der bis jetzt gewonnenen Resultate mir die Möglichkeit der Vollendung meiner Versuche sichern.

---

[1]) Anmerkung. Dass eine abnorme Entwickelung von Bacterien im Darm die Darmfäulniss fast ganz aufzuheben vermag, hat Gabriel Pouchet gezeigt (Compt. rend., Bd. 100, S. 362), welcher fand, dass die Aetherschwefelsäuren im Harn bei Cholera auf ein Minimum zurückgehen (Verhältniss der Aetherschwefelsäuren zur präformirten Schwefelsäure 1 : 120). Damit steht im Einklange, dass die Darmentleerungen bei Cholera, was schon lange bekannt ist, keinen Fäulnissgeruch zeigen. — Ich möchte hierbei bemerken, dass die Bestimmung der Aetherschwefelsäuren im Harn, unter normalen Verhältnissen zwar immer Aufschluss über die Fäulnissprocesse, d. h. die Producte der Lebensprocesse derjenigen Bacterien im Darm gibt, welche bei der Eiweissfäulniss betheiligt sind (diese Zeitschr. Bd. 10, S. 129), keineswegs aber die Gegenwart anderer Bacterien oder Mikroorganismen im Darm anzeigt oder ausschliesst. Baumann.

Ueber die Einwirkung von Benzoylchlorid auf Ammoniak.

Von

Dr. V. Lehmann.

(Aus dem Laboratorium von Professor Baumann.)

(Der Redaction zugegangen am 7. August 1892.)

Seitdem Schotten[1]) gezeigt hat, dass Benzoylchlorid bei Gegenwart von Wasser und Alkali auf Körper, welche Amid- oder Imid-Gruppen enthalten, so einwirkt, dass Benzoylverbindungen gebildet werden, ist das Benzoylchlorid zur Darstellung von Benzoylverbindungen auf ähnlichem Wege von Baum und von Baumann und Anderen verwendet worden. Es hat sich als ein sehr empfindliches Reagens für die Abscheidung von mehrwerthigen Alkoholen und insbesondere von Diaminen [Baumann und v. Udránszky[2]), Hinsberg und v. Udránszky[3])] erwiesen. Seitdem ist das Benzoylchlorid ein viel gebrauchtes Reagens geworden.

Den früher genannten Autoren scheint es nicht bekannt gewesen zu sein, dass schon vor längerer Zeit Berthelot[5]) das Benzoylchlorid zur Bildung von Benzoësäure-Aethylester derart verwendet hat, dass er eine wässerige Lösung von Weingeist mit Benzoylchlorid und mit Kalilauge behandelte, eine Einwirkung, welcher auch die Bildung von Aetherschwefelsäure aus Phenolkalium und Kaliumpyrosulfat analog ist. Das letztere geht mit Wasser fast augenblicklich in das primäre Sulfat über, welches zur Bildung von Schwefelsäure-

[1]) Schotten u. Baum, Ber. d. D. chem. Ges., Bd. XVII, S. 2545; Bd. XXI, S. 2538.

[2]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. IX, S. 465.

[3]) Ebend., Bd. XIII, S. 562.

[4]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 254, S. 252.

[5]) Zeitschrift f. Chemie. 1871, S. 471; Compt. rend., Bd. 73, S. 496.

äthern unter genannten Umständen nicht mehr dienen kann, das Benzoylchlorid dagegen wird viel schwerer und langsamer durch Wasser zerlegt, als das Kaliumpyrosulfat, wie wohl Jeder beobachtet hat, der mit beiden Substanzen zu thun hatte.

Noch viel früher hat Laurent[1]) das Benzoylchlorid in ähnlichem Sinne verwendet, indem er bei seiner Einwirkung (in alkoholischer Lösung) auf wässeriges Ammoniak die Bildung reichlicher Mengen von Benzamid beobachtet hat. Diese Einwirkung scheint später nicht mehr untersucht worden zu sein. Und doch ist es nicht ohne Interesse, zu erfahren, wie diese Reaction verläuft, im Hinblick darauf, dass bei der Anwendung des Benzoylchlorids in der Harnanalyse die Bedingungen für die Bildung von Benzamid gegeben sind.

Baumann und v. Udránszky (l. c.) haben bei der Behandlung von menschlichem Harn mit Benzoylchlorid und Natronlauge nie die Abscheidung von Benzamid beobachtet, dagegen hat Roos[2]) bei der Untersuchung von Thierharn, welcher grössere Mengen Ammoniak enthielt, eine sehr reichliche Abscheidung von Benzamid gefunden.

Ich habe deshalb einige Versuche über die von Laurent angegebene Reaction angestellt. Das Ergebniss der Versuche lässt sich in folgenden Sätzen zusammenfassen.

Beim Schütteln von Benzoylchlorid mit Ammoniak wird bei jeder Concentration des Ammoniaks Benzamid in reichlicher Menge gebildet. Aus verdünnten Lösungen findet dabei keine Abscheidung von Benzamid mehr statt, es lässt sich aber das Reactionsproduct der Flüssigkeit durch Ausschütteln mit Aether entziehen. Lösungen, die weniger als 1% Ammoniak enthalten, geben keine so gute Ausbeute, als Concentrationen zwischen 1% und 10%. Bei diesen verläuft die Reaction fast quantitativ im Sinne der Gleichung:

$$C_6H_5COCl + 2\,NH_3 = C_6H_5CONH_2 + NH_4Cl.$$

Hier wirkt also ein Theil des wässerigen Ammoniaks ganz so wie das Alkali in den oben genannten Versuchen.

---

[1]) Handbuch der Chemie von Gmelin, 4. Aufl., Heidelberg 1859, Bd. VI, S. 114.

[2]) Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. XV, S. 513.

Die Bestimmung des Benzamids geschah bei den folgenden Versuchen in der Weise, dass das auskrystallisirte Benzamid abfiltrirt und der in der wässerigen Lösung enthaltene Theil des Benzamids der — eventuell noch eingedampften — Flüssigkeit durch wiederholtes Schütteln mit Aether entzogen wurde.

Dass das Benzamid aus der wässerigen Lösung durch wiederholtes Schütteln mit Aether völlig gewonnen werden kann, zeigt der folgende Versuch.

Vorversuch. 0,2850 gr. Benzamid wurden in 100 cbcm. Wasser unter Zusatz von etwas Ammoniak auf dem Wasserbade gelöst. Die Flüssigkeit wurde mehrmals mit Aether ausgeschüttelt, der Aether bis auf ein geringes Volumen abdestillirt. Nach dem Verdunsten des Aethers blieb ein Rückstand von 0,2710 gr. Benzamid.

Versuch 1. 300 cbcm. 1procentiges Ammoniak wurden mit 3 cbcm. (= 3,6 gr.) Benzoylchlorid geschüttelt, bis die Flüssigkeit nur noch nach Ammoniak roch. Es erfolgte hierbei eine geringe Abscheidung. Die Flüssigkeit wurde dann — zusammen mit der geringen ausgeschiedenen Menge Benzamid — bis etwa auf ein Viertel ihres Volumens eingedampft, wobei durch Zusatz von ein wenig Ammoniak die alkalische Reaction bewahrt blieb. Die nach dem Erkalten auskrystallisirte Substanz wurde abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen und gewogen und durch Bestimmung des Schmelzpunktes als reines Benzamid erkannt. Die Flüssigkeit wurde wiederholt mit Aether ausgeschüttelt und die nach dem Abdestilliren des Aethers erhaltene Substanz gewogen und — wie auch in allen folgenden Versuchen — durch Schmelzpunktbestimmung mit Benzamid identificirt. Die ganze erhaltene Menge Benzamid betrug 2,6120 gr. Die wässerige Lösung ergab, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt, 0,2290 gr. Benzoësäure.

Versuch 2. Eben so wie Versuch 1. Es wurden 2,6415 gr. Benzamid erhalten.

Versuch 3. 40 cbcm. 10procentiges Ammoniak wurden mit 10 gr. Benzoylchlorid geschüttelt, wobei sich eine starke Abscheidung von Benzamid ergab, welches abfiltrirt wurde.

Die Flüssigkeit wurde wie in den vorigen Versuchen weiter behandelt. Es wurden 7,4770 gr. Benzamid und 1,0785 gr. Benzoësäure gewonnen.

Versuch 4. 2000 cbcm. $^{1}/_{10}$ procentiges Ammoniak mit 2 cbcm. (= 2,4 gr.) Benzoylchlorid geschüttelt, lieferten 1,3695 gr. Benzamid und 0,3855 gr. Benzoësäure.

Ich stelle die Ergebnisse im Folgenden tabellarisch zusammen:

Menge des angewandten Benzoylchlorids.	Menge und Concentration des angewandten Ammoniaks.	Absolute Menge des erhaltenen Benzamids.	Menge des Benzamids in Procenten der theoretischen Ausbeute.	Absolute Menge der erhaltenen Benzoësäure.	Menge der Benzoësäure in Procenten des angewandten Benzoylchlorids.
3,6 gr.	300 cbcm. von 1 %	2,6120 gr.	83,9 %	0,2290 gr.	6,4 %
3,6 gr.	300 cbcm. von 1 %	2,6415 gr.	84,9 %	—	—
10 gr.	40 cbcm. von 10 %	7,4770 gr.	86,5 %	1,0785 gr.	10,8 %
2,4 gr.	2000 cbcm. von 0,1 %	1,3695 gr.	66,1 %	0,3855 gr.	16 %

Zu diesen Bestimmungen ist noch besonders zu bemerken, dass der Werth der Benzoësäure durch eine fehlerfreie Bestimmung ermittelt worden ist, während das abgeschiedene Benzamid immer vor der Wägung mit Wasser ausgewaschen wurde. Es geht daraus hervor, dass immer ein kleiner Theil des gebildeten Benzamids verloren ging, dass somit die wirkliche Ausbeute an Benzamid in den drei ersten Versuchen ohne Zweifel mehr als 90 % der theoretischen Ausbeute betragen haben muss.

Man wird deshalb für die Darstellung des Benzamids zweckmässig zu dem alten Verfahren von Laurent zurückkehren, da die Ausbeute hierbei mindestens nicht schlechter ist, als nach Gerhardt's Verfahren[1]) bei der Anwendung

[1]) Handbuch der Chemie von Gmelin, 4. Aufl., Bd. VI, S. 114.

von kohlensaurem Ammon, bei welcher man nach E. Fischer[1]) nur ca. 70 % der theoretischen Ausbeute erhält.

Versucht man denjenigen Theil des Ammoniaks, welcher bei der Einwirkung auf das Benzoylchlorid nur als Alkali wirkt, durch Natronlauge zu ersetzen, so könnte man erwarten, eine noch grössere Ausbeute an Benzamid zu erhalten, wie dies z. B. bei der Bildung der Benzoylverbindungen der Diamine aus verdünnten wässerigen Lösungen der Fall ist. Indessen hat der Versuch diese Erwartungen keineswegs bestätigt. Vielmehr wirkt die Gegenwart der Natronlauge der Bildung des Benzamids entgegen. Eine Erklärung dieser Thatsache ergibt sich wohl aus der relativ leichteren Verseifbarkeit des Benzamids gegenüber den Benzoylverbindungen der Diamine (und auch der mehrwerthigen Alkohole), welche mit Natronlauge lange Zeit gekocht werden können, ohne die geringste Zersetzung zu erleiden. Diesem Umstande ist es auch zuzuschreiben, dass, wenn nicht grössere Mengen von Ammoniak im Harne enthalten sind, bei der Behandlung des Harns mit überschüssiger Natronlauge und Benzoylchlorid Benzamid überhaupt nicht gebildet wird.

Der quantitative Verlauf dieser Einwirkung ergibt sich aus den folgenden Versuchen.

Versuch 5. 300 cbcm. 1procentiges Ammoniak mit 3 cbcm. Benzoylchlorid und 12 cbcm. 10procentiger Natronlauge geschüttelt, lieferten 2,3895 gr. Benzamid = 76,8 % der theoretischen Ausbeute.

Versuch 6. Derselbe Versuch, mit 50 cbcm. Natronlauge angestellt, ergab 1,9440 gr. Benzamid = 62,5 % der theoretischen Ausbeute.

Man sieht aus vorstehenden Versuchen, dass, je mehr Natronlauge verwendet wird, um so weniger Benzamid bei der Reaction entsteht.

Ich habe nun ferner, da die Benzoylirung von Ammoniakderivaten des Harns auf dem eingeschlagenen Wege noch nicht

[1]) Anleitung zur Darstellung organischer Präparate.

genauer untersucht war, Versuche mit Harnstoff und mit Kreatinin angestellt.

Der Harnstoff lieferte selbst in 30procentiger Lösung beim Schütteln mit Benzoylchlorid weder für sich, noch bei Zusatz von Natronlauge Benzoylharnstoff. —

Beim Schütteln einer 5procentigen Kreatininlösung mit Benzoylchlorid und Natronlauge zeigte sich eine Abscheidung, deren Menge aber für die weitere Untersuchung zu gering war. Aus der abfiltrirten Flüssigkeit wurde durch Aether nichts aufgenommen.

Es scheinen sich also auch die Guanidinderivate nur schwierig zu benzoyliren[1]), was noch dadurch bestätigt wird, dass bei mehrstündigem Erwärmen von Kreatinin und Benzoylchlorid auf 150° neben braunen öligen Massen ein grosser Theil des Kreatinins unverändert zurückblieb.

Bei der Verwendung des Benzoylchlorids in der Harnanalyse ist also eine Einwirkung auf Harnstoff oder Kreatinin ausgeschlossen.

---

[1]) Eine ähnliche Erfahrung hat Thiele beim Versuche, das Nitroguanidin zu benzoyliren, gemacht. Lieb. Ann., Bd. 270, S. 21.

Ueber die mikrochemische Localisation des Phosphors in den Geweben[1]).

Von

Leon Lilienfeld und **Achille Monti.**

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 7. September 1892.)

Es ist die Aufgabe der biologischen Chemie, das Vorkommen der Stoffe in den thierischen und pflanzlichen Geweben nicht nur der Menge, sondern auch der Vertheilung nach festzustellen. Hierdurch wird erst ein Verständniss vieler anatomischer Verhältnisse angebahnt und die Beziehung der Form zur Function in manchen Fällen klargelegt.

Wir besitzen erst wenige Reactionen, welche uns in rationeller Weise über die Zusammensetzung der Theile eines mikroskopischen Bildes Aufschluss geben. Die Färbungen, von denen noch nicht einmal feststeht, ob sie auf physikalischer oder chemischer Grundlage beruhen, können für eine Erkennung der chemischen Beschaffenheit nicht ausschlaggebend sein. In den Geweben des Thierkörpers sind es vor Allem die Reactionen auf Eisen, auf Glykogen, auf Amyloïd, die durch Osmiumsäure hervorgerufenen Färbungen, die Xanthoproteïnreaction, Millon's Reaction, das Verhalten der verschiedenen Bestandtheile der Gewebe zu den Lösungsmitteln, welche man als rationelle Reactionen bezeichnen kann; eines grösseren Reichthums an derartigen Methoden kann sich die Botanik rühmen.

Die biochemische Wichtigkeit der Phosphorverbindungen in's Auge fassend, haben wir versucht, eine mikrochemische Reaction auf Phosphorsäure ausfindig zu machen. Hierbei

---

[1]) Vorläufige Mittheilung: Verh. d. physiol. Ges. zu Berlin vom 24. Juni 1892. Abgedruckt im Archiv f. Physiologie, herausg. v. E. du Bois-Reymond, Jahrg. 1892.

mussten wir von vornherein erwarten, dass die in den Gewebstheilen enthaltene Phosphorsäure in verschiedener Weise reagirt, je nachdem sie als Phosphat oder in organischer Bindung (Lecithin, Protagon, Nucleïn, Paranucleïn) vorhanden ist.

Wir benutzten das molybdänsaure Ammoniak, welches mit phosphorsauren Salzen in salpetersaurer Lösung einen sich ziemlich schnell entwickelnden Niederschlag bildet, hingegen mit Anhydridformen der Phosphorsäure oder mit organischen Verbindungen derselben nur dann eine Fällung gibt, wenn sich aus denselben Orthophosphorsäure abgespalten hat.

Wenn man einen phosphorsäurehaltigen Gewebstheil in eine salpetersaure Lösung von Ammoniummolybdat legt, so wird die Molybdänsäure an denjenigen Stellen, wo sich Phosphorsäure befindet, niedergeschlagen. Der entstehende Niederschlag ist gelb, also nicht ohne Weiteres wahrnehmbar; er muss erst durch eine chemische Reaction in einen gefärbten Körper verwandelt werden. Als eine derartige Reaction benutzten wir die Reduction, welche bekanntlich aus der Molybdänsäure blau gefärbte, niedere Oxyde bildet[1]).

Wir versuchten es mit verschiedenen Reductionsmitteln. Zu diesem Behufe legten wir die Gewebsstücke in Ammoniummolybdat, wuschen sie mit Wasser aus und brachten sie dann in das Reductionsmittel. Die Alkaloïde, welche bekanntermassen mit Ammoniummolybdat in schwefelsäurehaltiger Lösung Farbenreactionen geben, erwiesen sich für uns als unbrauchbar; nachher versuchen wir es mit Zinnchlorür und Eisenvitriol; beide geben zwar eine grüne oder blaue Färbung, welche aber für vorliegende Zwecke zu schwach ist. Etwas bessere Resultate bekamen wir mit Gerbsäure und die besten und beweisendsten mit Pyrogallol, welches uns nie im Stiche liess und immer klare und intensive Bilder gab. Das Pyrogallol gibt schon im Reagensglase mit Phosphormolybdänsäure eine intensiv braune bis schwarze Färbung, wobei niedere Molybdänoxyde entstehen.

---

[1]) Stahl, Molybdänsäure, als Farbreagens auf gewisse aromatische Oxydkörper, Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, No. 9, 1892.

Eine Schwierigkeit, welche wir zu bekämpfen hatten, bestand darin, dass die Phosphorsäure in den meisten Zellkernen und Geweben nicht im freien Zustande, sondern in mehr oder weniger fester organischer Verbindung auftritt. Es hat sich aber bei unseren Untersuchungen herausgestellt, dass beim Einwirken des Ammoniumolybdats und nachheriger Reduction nicht nur an denjenigen Orten, wo sich Phosphate befinden, eine Färbung entsteht, sondern dass auch ein Theil der organisch gebundenen Phosphorsäure und sogar Metaphosphorsäure reagirt. Wahrscheinlich erfolgt in diesen Fällen während der Digestion mit molybdänsaurem Ammoniak eine Umwandlung in Orthosäure. Gleich zu Anfang sahen wir, dass manche Gewebe nach kurzem Verweilen in Ammoniummolybdat bei nachheriger Behandlung mit Pyrogallol nur sehr schwache Färbung gaben, während sich andere sogleich intensiv tingirten. Es war dies nur durch die grössere oder geringere Intensität der organischen Phosphorsäurebindung zu erklären. Diese Annahme bestätigte sich, als wir die Gewebsstücke vorher mit Barytwasser oder Natriumcarbonat behandelten, oder sie längere Zeit in Ammoniummolybdat verweilen liessen. In allen diesen Fällen, wo wir die Phosphorsäure artificiell abspalteten — beim Ammoniummolybdat durch die in der Lösung vorhandene Salpetersäure —, erhielten wir intensive Phosphorreaction.

Der Gang unserer Methode war folgender. Da es unbekannt ist, mit welchen chemischen Veränderungen die verschiedenen Härtungsmethoden einhergehen, hielten wir es für angezeigt, frische Organe zu benutzen. Der Umstand, dass das Ammoniummolybdat nur sehr kleine Stücke durchtränken kann, machte das Arbeiten mit frischen fertigen Schnitten, Zupf-, Schab- und Klatschpräparaten nothwendig. Doch geben auch im Alkohol gehärtete Präparate ziemlich gute Bilder. Wir benutzten eine nach Fresenius[1]) bereitete Lösung von molybdänsaurem Ammoniak. Die Zeit, welche die Präparate in letzterer verweilen sollen, hängt natürlicher-

[1]) Fresenius, Quantitative chemische Analyse, Braunschweig 1877—87, Bd. II, S. 691 (Anmerkung).

weise von dem chemischen Zustand der in den Geweben enthaltenen Phosphorsäure ab. Ist in den Organen freie Phosphorsäure enthalten, so genügt schon ein Augenblick, um sie mikrochemisch zu fällen, ist dagegen die Phosphorsäure an organische Atomcomplexe gebunden, so hängt die Zeit von der Festigkeit der Bindung ab. Bei lockerer Bindung der Phosphorsäure genügen einige Minuten bis zu einer halben Stunde, bei fester Bindung dagegen muss man die Gewebsstücke mehrere Stunden mit Ammoniummolybdat behandeln. Will man sich die Zeit abkürzen, so muss man die gebundene Phosphorsäure durch Behandlung mit Natriumcarbonat oder Barytwasser frei machen. Wenn die Gewebe sehr reich an Phosphor sind, so bemerkt man schon jetzt an den in der Ammoniummolybdatlösung befindlichen Stücken eine makroskopisch erkennbare, schwach gelbe Färbung, welche von gefällter Phosphormolybdänsäure herrührt. Nachdem die Stücke genügend lange mit molybdänsaurem Ammoniak in Berührung waren, werden sie sorgfältig, und zwar bis zum Verschwinden des Ammoniummolybdats, aus dem Waschwasser ausgewaschen. Man prüft dies am besten durch Zusatz von Pyrogallol zum Waschwasser: entsteht eine braune oder gelbe Färbung des Wassers bei Pyrogallolzusatz, so ist noch Ammoniummolybdat in demselben vorhanden. Bleibt das Wasser klar und ungefärbt, dann ist es von Ammoniummolybdat frei. In der Regel genügt dreimaliges Auswaschen. Jetzt kommen die Stücke in eine 20procentige Lösung von Pyrogallol. Das Pyrogallol reducirt die gebildete Phosphormolybdänsäure und es entsteht demgemäss an den phosphorreichen Stellen des Präparates je nach dem Phosphorgehalte eine gelbe, braune oder schwarze Färbung. Die Stücke dürfen nicht zu lange mit Pyrogallol in Berührung bleiben, weil die ursprüngliche Intensität der Färbung dadurch abnimmt. Einige Minuten genügen. Das Pyrogallol wird wieder bis zum Verschwinden der Reduction mit Ammoniummolybdat im Waschwasser ausgewaschen und das Präparat in Wasser untersucht. Bei der Untersuchung in Wasser bekommt man sehr schöne Bilder. Wenn jedoch die Stücke zu lange in Wasser verweilen, ver-

ändert sich allmälig die schöne Reaction und die Färbung wird immer mehr diffus und blass. Um diesem Nachtheile aus dem Wege zu gehen, haben wir zuerst unsere Präparate recht eilig der Beobachtung unterzogen, dann haben wir versucht, Dauerpräparate herzustellen. Glycerin entfärbt die Präparate sehr schnell, Farrant'sche Mischung conservirt sie etwas besser, die schönsten Conservirungspräparate erhielten wir jedoch beim Einschliessen in Canadabalsam, nach vorheriger Entwässerung mit Alkohol und Klärung in Xylol.

Der Umstand, dass die in Wasser lange Zeit gebliebenen Schnitte eine diffuse Färbung darbieten, veranlasste uns zu anderen Versuchen. Wir wollten nämlich die in der wässerigen Pyrogallollösung eventuell stattfindende Diffusion vermeiden und wir entwässerten zu diesem Ende die mit Ammoniummolybdat behandelten, gut gewaschenen Schnitte mit Alkohol und brachten sie dann in ätherische Pyrogallollösung. Die Schnitte blieben ungefärbt. Wenn wir aber dieselben Schnitte wieder in Alkohol und Wasser legten und dann nochmals in ätherische Pyrogallollösung, so erhielten sie eine intensive Färbung. Daraus müssen wir den Schluss ziehen, dass Wasser für die Reaction unentbehrlich ist.

Wenn wir mit Wasser benetzte Schnitte direct in ätherische Pyrogallollösung bringen, so tritt die Färbung ein, wobei aber die kleine Wassermenge nicht genügt, um eine erhebliche Diffusion des entstandenen Farbstoffes zu bewirken. In der That bleibt bei diesen schnell mit Alkohol entwässerten und in Canada eingeschlossenen Präparaten die Färbung intensiv und differenzirt; niemals wird sie blass und diffus, wie bei den mit wässeriger Pyrogallollösung lange behandelten Stücken.

Gleich im Beginn unserer Untersuchungen waren wir uns darüber klar, dass man gegen unsere Methode verschiedene Einwände machen kann. Um uns Sicherheit zu verschaffen, haben wir die uns bewussten Einwände auf ihre Stichhaltigkeit geprüft. Der erste Einwand bestand darin, dass die erhaltene Färbung nichts mit dem Phosphorgehalt zu schaffen hat und blos auf Niederschlägen beruht, welche von den Zellkernen mechanisch gefesselt werden. In der That wird jedem

Histologen sich der Gedanke aufdrängen, dass unserer Methode kein besonderer chemischer Process, sondern blos eine einfache physikalische Imbibition mit dem Farbstoff zu Grunde liegt, der bei dem Zusammentritt von molybdänsaurem Ammon mit Pyrogallol entsteht. Dieser Einwand wird aber gleich unhaltbar, wenn man den Umstand in Erwägung zieht, dass das gewöhnliche in Wasser lösliche Ammoniummolybdat durch das wiederholte Waschen aus den Geweben entfernt wird und dass auch bei Annahme eines unvollständigen Auswaschens die eventuell im Schnitte zurückbleibende in das Pyrogallol übertragene Menge von Ammoniummolybdat absolut nicht genügen kann, um eine für die Tinction der Gewebe genügende Farbstoffmenge zu erzeugen. Es müsste sich ja auch die den Schnitt umgebende Pyrogallollösung irgendwie tingiren; sie bleibt aber absolut ungefärbt. Wir können über einen Versuch berichten, welcher diesen Einwand klar widerlegt. Wir haben frische, mit molybdänsaurem Ammoniak behandelte Schnitte aus Lilienovarien dreimal in Wasser gewaschen, dann in gewöhnlichem und in absolutem Alkohol gut entwässert, nunmehr in Aether und wieder in absoluten Alkohol, nachher in Terpentinöl, wieder in absoluten Alkohol, verdünnten Alkohol, Wasser und schliesslich in Pyrogallollösung gebracht. Die charakteristische Färbung trat bei diesen Schnitten eben so wie bei den einfach mit Wasser gewaschenen schön zu Tage.

Daraus glauben wir schliessen zu müssen, dass bei der Einwirkung des molybdänsauren Ammons in den Geweben eine unlösliche, durch das vielfache Waschen nicht entfernbare Verbindung entsteht, welche von dem nun nachfolgenden Pyrogallol gefärbt wird. Thatsächlich bietet die Phosphormolybdänsäure die Eigenschaften einer solchen Verbindung dar.

Wir versuchten auch, ob bei umgekehrter Behandlung eine Färbung entsteht. Zu diesem Behufe legten wir zellreiche Gewebsstücke zuerst in Pyrogallol und nachher in Ammoniummolybdat: wir bekamen absolut keine Färbung, wenn wir auch die Stücke gar nicht wuschen; brachten wir sie aber zuerst in Ammoniummolybdat und dann in Pyrogallol, so gab der phosphorreiche Zellkern eine intensive Färbung.

Der zweite Einwand, den wir uns machten, war, dass vielleicht die Salpetersäure mit dem Eiweiss die Farbenreaction gibt, welche sich bei Pyrogallolzusatz verstärkt und gar nicht auf Kosten des Phosphors zu rechnen ist.

Durch folgende Versuche prüften wir nun den Werth unserer Methode.

Wir unterwarfen ein Stück hart gesottenen Eiweisses aus einem Hühnerei unserer Behandlung. Das Eiweissstück färbte sich zwar schwach, aber doch kenntlich gelb. Diese Thatsache verurtheilte entweder vollständig unsere Methode, oder es enthielt das Eiereiweiss Phosphor. In der That gab ein Stück desselben Eiweisses, mit Soda und Salpeter geschmolzen, Phosphorreaction. Wir versuchten es nun mit einem absolut phosphorfreien Pepton. Letzteres gab absolut keine Färbung und blieb schneeweiss. Zum Vergleich unterwarfen wir unserer Methode einen phosphorreichen Kernbestandtheil, das Nucleohiston. Dieses wurde, mit unserer Methode behandelt, pechschwarz.

Im Laufe unserer Untersuchungen hat sich unter Anderem herausgestellt, dass die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels sich nicht färbt, also keinen reactionsfähigen Phosphor enthält. Wir legten frische Knorpelstücke in Metaphosphorsäure, wuschen sie aus und unterwarfen sie dann unserer Reaction: die mit Metaphosphorsäure durchtränkte Grundsubstanz färbte sich jetzt intensiv.

Zellreiche Stücke von Salamanderlarven, in denen sich blos der Kern intensiv tingirte, während das Cytoplasma fast farblos blieb, behandelten wir längere Zeit mit Nucleïnsäure, welche bekanntlich mit phosphorfreiem Eiweiss Verbindungen eingeht. Sie vereinigte sich also mit den Eiweisskörpern des Cytoplasmas und verwandelte sie — so zu sagen — in Kernsubstanz. Als wir nun die mit Nucleïnsäure behandelten Präparate unserer Methode unterwarfen, bekamen wir eine diffuse Färbung der Zellen: sowohl Kern als Leib waren intensiv tingirt.

Im frischen Sperma ist bekanntlich die Phosphorsäure im Nucleïn ausserordentlich fest gebunden und macht die

Spermatozoën äusserst widerstandsfähig gegen unsere Methode. Wenn wir also die Spermatozoën vom anhaftenden Ammoniummolybdat auch gar nicht frei wuschen und sie direct in Pyrogallol brachten, bekamen wir ebenfalls gar keine Färbung. Wenn wir jedoch Sperma längere Zeit mit molybdänsaurem Ammoniak behandelten und so die Phosphorsäure frei machten, färbten sich die gewaschenen Spermatozoën intensiv.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen, dass der Phosphor in seinen Sauerstoffverbindungen jedenfalls mit Hilfe dieser Methode mikroskopisch nachweisbar ist. Es bleibt freilich die Möglichkeit bestehen, dass es ausser der Phosphorsäure noch andere und zwar organische Substanzen geben könne, welche unter diesen Verhältnissen Molybdänsäure fixiren. Sollte dies auch der Fall sein, so würde trotzdem unsere Methode ihren Werth nicht verlieren, denn es werden bekanntlich manche chemische Reactionen benutzt, welche nicht eindeutig, sondern verschiedenen Substanzen gemeinsam sind.

Das Ammoniak löst bekanntlich sehr leicht Phosphormolybdänsäure. Wir brachten zellreiche Schnitte von Lilien und Muskelstücke in Ammoniummolybdat, wuschen sie aus und dann legten wir einige von ihnen in Ammoniakflüssigkeit und einige direct in Pyrogallol. Die ersten wurden dann mit Wasser sorgfältig von Ammoniak frei gewaschen und ebenfalls mit Pyrogallol behandelt. Schon makroskopisch sahen wir, dass die mit Ammoniak behandelten Präparate vollständig ungefärbt blieben, während sich die anderen intensiv tingirten. Das Mikroskop bestätigte diesen Befund; denn während an den Präparaten, welche mit Ammoniak in keiner Berührung waren, eine höchst intensive Färbung, also Phosphorreaction, eintrat, waren die anderen vollständig farblos und in den Lilienschnitten waren keine Zellkerne zu erkennen. Das Ammoniak löst also die in den Zellen sich bildende Molybdänsäureverbindung, ebenso wie es Phosphormolybdänsäure zu lösen im Stande ist.

Wir gehen jetzt zu dem speciellen Theile unserer Arbeit über, also zu den Ergebnissen, welche uns die einzelnen Organe und Gewebe lieferten.

Zellen im Allgemeinen. Zu diesem Behufe untersuchten wir grosse Zellen aus Lilienknospen und Spargeln. Beide ergaben eine intensive braune Farbe des Zellkerns und eine schwach gelbe Färbung des Primordialschlauches. Es schien uns anfänglich, dass auch die Umrisse der Zellen gefärbt sind; doch zeigte sich bei Schnitten, welche längere Zeit in Ammoniummolybdat verweilten oder wo sich der Primordialschlauch contrahirt hat, dass die Zellmembran absolut ungefärbt war, was auch mit den makrochemischen Untersuchungen, welche schon seit langer Zeit lehren, dass Cellulose phosphorfrei ist, sehr gut übereinstimmt. Daneben sahen wir, dass die Stärkekörner ungefärbt bleiben, während die Cytomikrosomen schwach gelbe Tinction annehmen. Im Kern färben sich in erster Linie äusserst intensiv die Karyomikrosomen, also die optischen Querschnitte des Karyomitoms. In den Ovarien der befruchteten Lilien fanden wir Embryonen, welche sich als sehr phosphorreich erwiesen.

Von grossem Interesse ist ohne Zweifel die Frage nach der Vertheilung des Phosphors während der Vermehrung der Zelle. Bei jungen Lilienembryonen fanden wir viele Mitosen, die uns sehr lehrreiche Bilder gaben. Bei diesen Pflanzentheilen hat nämlich unsere Reaction sehr gut das Karyomitom gefärbt, während das Karyoenchylem und das ganze Zellprotoplasma sehr schwach gefärbt erschienen. Bei diesen Präparaten konnten wir schöne Knäuel-, Halbtonnen- und Doppelsternformen erkennen, bei denen die Chromosomen intensiv gefärbt waren. Alle anderen Bestandtheile des Kernes und des Cytoplasmas blieben verhältnissmässig sehr blass. Aus diesen Versuchen geht hervor, dass bei Lilienembryonen der reactionsfähige Phosphor besonders an das Karyomitom gebunden ist. Man kann freilich den Einwand machen, dass die Mitosen sich deshalb so gut färben, weil sie eine besondere Affinität zu den Stoffen zeigen. Aber nicht alle sich vermehrenden Zellen verhalten sich gegenüber unserer Methode wie die Lilienembryonen.

Ganz anders verhalten sich z. B. die Hodenzellen der Salamander. Wir haben reife Hoden der Salamander, bei

denen mit den gewöhnlichen Methoden sehr viele Kerntheilungen zu finden waren, mit unserer Methode untersucht. Allein nach unserer Behandlung sind sämmtliche Hodenzellen braunschwarz geworden, so dass kein Unterschied zwischen Kern und Protoplasma zu erkennen war. Wir müssen daraus den Schluss ziehen, dass die Hodenzellen sehr phosphorreich sind und dass der reactionsfähige Phosphor selbst im Cytoplasma sehr verbreitet ist. Auch scheint uns das Verhalten der Hodenzellen im Vergleich mit den Zellen der Lilienembryonen gut zu zeigen, dass unsere Reaction gar nicht als gewöhnliche Färbung, sondern als ein chemischer Process aufzufassen ist.

Es ist bekannt, dass in manchen Pflanzenzellen natürliche Krystalle vorkommen, welche aus einem phosphorhaltigen Proteïd, dem sogenannten Vitellin, bestehen. Wir untersuchten die Krystalloïde von Bertholletia excelsa, welche mittels Fischleims auf einem Deckglas aufgeklebt, unserer Behandlung unterworfen wurden. Sie gaben die Phosphorreaction mit einer gelbbraunen Farbe, während der Fischleim ungefärbt blieb. Darnach war es auch interessant, dieselben Krystalle in frischen Schnitten von Paranüssen auf ihren Phosphor zu prüfen. Wir befestigten die Schnitte mit Leim auf einem Deckglas, um im Laufe der Operationen die Krystalle aus den Schnitten nicht zu verlieren. Auch an diesen Schnitten waren die Krystalle sehr gut gefärbt. Allein daneben gaben auch die Zellkerne und die Primordialschläuche eine starke Phosphorreaction. Auch hier blieb die Zellmembran ganz ungefärbt. Bei der Untersuchung des Hollundermarks ergab sich, dass sich dasselbe gar nicht färbt.

Bacterien. Die Bacterien färben sich schwach braun; sie enthalten also reactionsfähigen Phosphor.

Von thierischen Geweben untersuchten wir folgende.

Epithelzellen. Wir behandelten nach unserer Methode Epithelzellen der Haut von Fröschen und von Salamanderlarven. An diesen Zellen sahen wir, dass sich die Kerne braun färbten, während das Cytoplasma fast ungefärbt blieb. Wir bemerkten jedoch, dass bei den Epithelzellen der tieferen Schichten und bei den Epithelzellen der Hautdrüsen des

Frosches sich auch das Cytoplasma färbte. An diesen Präparaten waren zwischen den Zellen Mucinschichten oder Mucinfäden zu erkennen, welche ganz ungefärbt blieben. Dieser Befund steht in gutem Einklange mit der Makrochemie, welche das echte Mucin für phosphorfrei erklärt. Aehnliche Bilder ergaben auch Epithelzellen aus der Froschzunge. Andere Epithelzellen haben wir im menschlichen Zungenbeleg studirt; diese breiten, dünnen Pflasterzellen zeigen einen phosphorhaltigen Kern und phosphorfreies Protoplasma. Auch in den Hoden von Melolontha vulgaris sahen wir grosse Epithelzellen mit braunem, also phosphorreichem Kern und gelbem Cytoplasma.

Hydra. Von niederen Thieren haben wir einige Hydren auf Phosphor geprüft. Hier konnten wir die Vertheilung des Phosphors am besten im Ektoderma studiren. Die Tegumentalzellen der Hydra sind sehr gut an den Tentakeln zu sehen. Es hat sich ergeben, dass die Zellen im Allgemeinen ziemlich phosphorreich, also braun gefärbt sind. Die Umrisse der Zellen sind gut zu erkennen; die Kerne sind viel intensiver als das Cytoplasma gefärbt. Alle Geisseln sind ausgetreten und vollkommen ungefärbt.

Spermatozoën. Wir untersuchten Sperma vom Eber, Hund und Frosch, und zwar an Deckglasausstrichpräparaten. Unterwarfen wir frische Spermatozoën sofort der Behandlung und behandelten sie ganz kurze Zeit mit Ammoniummolybdat, so bekamen wir äusserst schwache Reactionen. Je länger jedoch das Sperma mit Ammoniummolybdat in Berührung war, um so intensiver trat die Phosphorreaction auf. Diese Thatsache findet ihre Erklärung in dem Umstande, dass speciell in gewissen Samenzellen die reichlich vorkommende Phosphorsäure im Nucleïn äusserst fest gebunden ist. Durch die Wirkung der Salpetersäure wird sie allmälig frei gemacht. Diese Annahme bestätigte sich, wenn wir frisches Sperma mit Natriumcarbonat oder Barytwasser behandelten, wobei die Phosphorreaction sofort eintrat. Wir wollen sogleich bemerken, dass die Spermatozoën vom Frosch die Reaction zwar nicht intensiver, aber schneller als die anderen gaben; die Phosphor-

säure ist also im Froschsperma z. Th. lockerer gebunden. Die Bilder gestalteten sich folgendermassen: Beim Froschsperma sind die Köpfe intensiv und gleichförmig gefärbt, die Schwänze sind vollkommen farblos. Beim Eber sind die Köpfe und die Mittelstücke sehr stark, die Schwänze schwach gefärbt. Beim Hund sind die Köpfe intensiv gefärbt, wobei sich ein Unterschied in der Vertheilung des Phosphors geltend macht: es sind nämlich die hinteren Partien der Köpfe viel intensiver als die vorderen gefärbt.

Blut. Wir prüften Blut vom Frosch und vom Menschen. Wir versuchten es zu allererst mit Trockenpräparaten nach Ehrlich, welche wir der Behandlung mit Ammoniummolybdat und Pyrogallol unterwarfen. Diese Methode erwies sich als unbrauchbar für unsere Reaction; es scheint, dass bei der Eintrocknung durch Hitze die chemischen Merkmale des Blutes verloren gehen. Wir griffen daher nach einer anderen Methode, welche darin bestand, dass wir das Blut auf Deckglässern ausstrichen und sofort, bevor es eintrocknete, in Ammoniummolybdat brachten, welches sich als gutes Fixationsmittel für Blut erwies. Das Froschblut ergab, dass die rothen Blutkörperchen sich intensiv tingiren, wobei der ganz braune Kern phosphorreicher erscheint als das Cytoplasma. Mit Menschenblut erhielten wir folgende Resultate: Die rothen Blutkörperchen färben sich stark gelbbraun; ihr grosser Phosphorgehalt steht sehr gut mit ihrem Gehalte an Lecithin in Einklang. In den Leukocyten ist der Kern braun gefärbt; allein auch das Cytoplasma scheint kleine Mengen von Phosphor zu enthalten, denn es färbt sich schwach gelb. Dieselben Bilder wie mit Leukocyten bekamen wir mit einem Präparate von Eiterzellen, welche aus einer kleinen Hautpustel stammen. Das interessanteste Ergebniss lieferten die Plättchen, indem sie sich dunkelbraun färbten. Dieser hohe Phosphorgehalt der Plättchen liefert noch eine schöne Bestätigung der von Einem von uns schon früher dargelegten Untersuchungen, welchen zu Folge die Plättchen Nucleïn enthalten. An Präparaten von geronnenem Blute färbt sich das Faserstoffnetz gar nicht, während die Plättchen

und die Zellkerne der Leukocyten intensive Tinction annehmen.

Bindegewebe. Wir haben lockeres und festes Bindegewebe untersucht. Beim letzteren Bindegewebe aus der Zunge des Frosches ist die Grundsubstanz ungefärbt, sie scheint also phosphorfrei zu sein. Die Kerne der Bindegewebszellen geben die Reaction mit schwarzbrauner Farbe. Beim festen Bindegewebe aus den Sehnen des Frosches und der Käfer scheint die Grundsubstanz ebenfalls phosphorfrei zu sein.

Knochen. Wir brachten frische dünne Knochen aus dem Sternum des Sperlings und Schädelknochen der Maus direct in Ammoniummolybdat. Sofort entstand ein heftiges Aufbrausen der Flüssigkeit, indem die Salpetersäure die kohlensauren Salze der Knochen löste. Zu derselben Zeit entstand ein riesiger gelber Niederschlag von Phosphormolybdänsäure rings um die Knochenstücke, welcher auf grosse Mengen freier Phosphorsäure hindeutete. Als die Kalksalze aufgelöst waren, dachten wir, die ganze Phosphorsäure wäre den Knochen entzogen. Dies war aber nicht der Fall, denn die gewaschenen entkalkten Stücke wurden, in Pyrogallol gebracht, schwarz. Mikroskopisch waren aber die Bilder, der vielen Niederschläge und Gasblasen wegen, werthlos.

Knorpel. Es wurden die hyalinen Knorpel der Salamanderlarven und des Frosches untersucht. Die Grundsubstanz ist vollständig phosphorfrei, während die Zellen, und besonders der Kern, Phosphor enthalten. Wir unterschieden stark und schwach gefärbte Kerne. Die kleinen homogenen Kerne sind intensiv gefärbt, während an den grossen granulirten Kernen sich blos die Nucleomikrosomen intensiv tingiren. Dieser Unterschied im Phosphorgehalte scheint der Ausdruck verschiedener Entwickelungsstadien der Knorpelzellen zu sein. Wir brachten Knorpelstücke in Orthophosphorsäure und behandelten sie nachher nach unserer Methode. Es kam dabei dasselbe Phänomen wie bei den Knochen zu Stande: riesige Niederschläge und schmutzige schwarze Färbung. Wir durchtränkten feine Knorpelstücke mit Nucleïnsäure. Hiernach färbte sich die nucleïnisirte Grundsubstanz ziemlich stark.

Nervenzellen. Wir prüften Nervenzellen der Maus und des Kaninchens. Zu diesem Ende härteten wir ein Kaninchengehirn in Salpetersäure, fertigten Schnitte an und behandelten sie nach unserer Methode. Wir fanden an diesen Präparaten, dass die Rinde intensiver gefärbt ist als das Mark. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Präparate war die Orientirung durch die diffuse braune Färbung der Rinde erschwert. Jedenfalls konnten wir feststellen, dass in einer Reihe von Nervenzellen das ganze Cytoplasma stark gefärbt war, während sich der Kern viel schwächer färbte. Manchmal sind die Kerne gar nicht zu erkennen. An denselben Schnitten aber konnten wir Kerne sehen, welche sehr gut gefärbt waren. Es ist möglich, dass diese Kerne der Neuroglia angehören.

Nieren. Das ganze Cytoplasma der Nierenepithelien ist phosphorreich, und zwar enthalten sie salzartig gebundene Phosphorsäure, was daraus zu schliessen ist, dass die Reaction sofort eintritt. Es steht dies wahrscheinlich in Beziehung mit der freien Phosphorsäure des Harns.

Muskeln. Wir prüften auf ihren Phosphorgehalt die quergestreiften Muskelfasern des Frosches und der Melolontha vulgaris. Die Muskeln ergaben das frappanteste Resultat und waren ein sehr werthvoller Probirstein für die Beweisfähigkeit unserer Methode. Der Muskel enthält bekanntermassen grosse Mengen von Phosphorsäure, welche wahrscheinlich als Kaliumphosphat in demselben enthalten ist. Wir erwarteten also vom Muskel sofortige und intensive Reaction, was sich auch in ausgiebigem Maasse bestätigte. Nachdem die Muskeln ein paar Minuten in Ammoniummolybdat verweilten, tritt mit Pyrogallol eine derart intensive Färbung ein, dass man unter dem Mikroskop an den Präparaten beinahe nichts unterscheiden kann. Wenn wir die Präparate in Farrant'scher Mischung sich ein wenig entfärben liessen, dann konnten wir leicht beobachten, dass die Phosphorreaction besonders an die dunklen Streifen gebunden ist. Wir sind demnach geneigt, zu glauben, dass die dunklen Streifen phosphorsäurereicher sind als die hellen.

Zum Schlusse wollen wir noch auf einen Gedanken hinweisen, welcher sich uns bei der Sichtung unserer Resultate aufdrängte. Wir sahen, dass die Zellkerne der entwickelungsfähigen jungen Zelle immer sehr phosphorreich sind, dass aber in Zellen, bei welchen die Fortpflanzungsfähigkeit in den Hintergrund tritt, um einer specifischen Function Platz zu machen, der Zellkern seinen Phosphor grösstentheils verliert. Als Beispiel citiren wir die Nervenzellen, welche, ihr Fortpflanzungsvermögen einbüssend, psychische Functionen übernehmen. Die neueren Arbeiten auf diesem Gebiete haben experimentell gezeigt, dass die Ganglienzellen der erwachsenen Säugethiere sich nicht mehr vermehren können. Es ist also der Gedanke sehr schwer abzuweisen, dass der Phosphorgehalt ein steter Begleiter des Fortpflanzungsvermögens ist. Diese Annahme entspricht den Untersuchungen von Kossel[1]) über den Nucleïngehalt der embryonalen Gewebe im Vergleich mit den Geweben der erwachsenen Thiere; sie findet auch eine Bestätigung in einer neueren Arbeit von Szymkiewicz[2]), welche ergab, dass die Leberzellen am reichsten an Phosphor in der Fötalperiode sind und dass ihr Phosphorgehalt gleich nach der Geburt sehr stark abnimmt, um mit der weiteren Entwickelung der Thiere noch mehr abzunehmen. Es wird sich hier wohl um den Phosphor des Nucleïns handeln.

Zum Schluss sei es uns gestattet, dem Herrn Professor Kossel für das warme Interesse, welches er am Fortgang unserer Untersuchungen nahm, innigst zu danken.

---

[1]) A. Kossel, Zur Chemie des Zellkerns, Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 7, Heft 1. — Derselbe, Gewebelehre von Schiefferdecker und Kossel, I. Theil, Braunschweig 1891, S. 57 und 232.

[2]) F. St. Szymkiewicz, Ueber den Schwefel- und Phosphorgehalt der Leberzellen des Rindes in den verschiedenen Lebensaltern. (Inaug.-Dissert., Dorpat 1891.)

Psyllostearylalkohol, ein neuer Fettalkohol im Thierreiche.

Vorläufige Mittheilung.

Von

Ernst Edv. Sundwik.

(Der Redaction zugegangen am 25. September 1892.)

Während meines Sommeraufenthalts auf dem Lande in Finnland hatte ich schon seit mehreren Jahren jeden Sommer Gelegenheit wahrzunehmen, wie fast alle Erlenbäume (die hier allgemein wachsenden Grauerlen, Alnus incana), besonders an den Zweigspitzen, mit einem weissen Pulver bedeckt waren. Dieser Staub war um so auffälliger, als man beim Durchgehen ganz weiss gefärbt wurde. Eine oberflächliche Untersuchung ergab bald, dass dies nicht etwa vom Baume, sondern von einer auf den Erlen nistenden Blattlaus, Psylla Alni, producirt wurde, auch der Staub zufälliger Weise sich auf den jungen Zweigspitzen von nahe wachsenden Birken befand, doch nur ausnahmsweise. Um sich vor ungünstiger Witterung zu schützen, hat das Insect als Larve, welche durch Knospenbildung erzeugt wird und keine Flügel besitzt, auf der Rückenseite eine Menge Drüsen, welche den Stoff secerniren. Sie sind dann einem Stachelschwein nicht unähnlich, da der Stoff wie eine Borste über jeder Drüse, die ihn erzeugt, stehen bleibt. Kommt ein intensiverer Regen, so verschwinden die Insecten gleich. Die Einsammlung muss also in 2 bis 4 Tagen vollendet sein und habe ich zuletzt bis über 100,000 mit grosser Mühe mir schaffen können.

Die erhaltene Menge des weissen Stoffes war aber dennoch sehr klein. Und doch konnte man auf den Blättern manchmal bis 2 Millimeter breite Halbkugeln und Tropfen von geschmolzenem Stoffe wahrnehmen, ein Beweis dafür, dass die secernirten Mengen keine geringen waren. In der zoologischen Litteratur findet man den Stoff als Fett oder Wachs bezeichnet, meistens wird er aber ganz übersehen, seine Natur wenigstens in chemischer Hinsicht nur selten angegeben.

Um den Stoff untersuchen zu können, wurden je einige Tausend Insecten locker in einer Düte aus Papier gesondert aufgesammelt, die Düte zusammengefaltet und aufgehängt zum Trocknen auf luftigem Platze. Erst in letztem Jahre habe ich hinreichend bekommen können, um eine vollständigere Untersuchung zu ermöglichen. Obgleich Alles noch nicht im Klaren ist, will ich doch die Resultate meiner Untersuchungen publiciren, um sie später zu vervollständigen.

Gleich nach der ersten Einsammlung (1887) machte ich die Wahrnehmung, dass der Stoff auch in heissem Aether unlöslich ist, gleich wie in kaltem Chloroform, dagegen sehr leicht in heissem Chloroform sich löst. Die getrockneten Insecten werden also im gewöhnlichen Extractionsapparate mit heissem Aether ausgezogen, wodurch viel Fett gelöst wurde. Nach Verdunsten des zurückbleibenden Aethers wurden die Insecten mit heissem Chloroform ausgezogen. Beim Abkühlen der Chloroformlösung schied sich die Substanz fast rein ab. Doch wurde der Rückstand noch nach dem Filtriren, Auspressen und Trocknen unter der Luftpumpe über Schwefelsäure zum dritten und vierten Male in gleicher Weise extrahirt. Die nun zuletzt abgepresste und getrocknete Substanz bestand aus einer verfilzten, sehr schön seidenglänzenden Masse, die ihrerseits aus ausserordentlich feinen, biegsamen und mikroskopischen Nadeln bestand. Die Masse löste sich beim Trocknen sehr leicht von selbst vom Filter.

Schon nach der dritten Extraction war der Schmelzpunkt constant und blieb auch so, wie man auch mit der

Substanz vorging. Dagegen schien sie mit Wasser zu krystallisiren, wenn man sie aus wasserhaltigem Alkohol-Chloroform krystallisiren liess. Die so erhaltenen Krystalle waren grösser, wurden unter der Luftpumpe über Schwefelsäure matt und zerfielen theilweise zu Staub. Ich habe darum stets beim Analysiren die Masse erst geschmolzen, um sicher zu sein, dass kein Wasser mitfolge.

Hier folgen erst einige Reactionen.

Schmelzpunkt: constant 95—96° C. (uncorrig.). Der Stoff gesteht zu einer wachsähnlichen, durchscheinenden Masse.

Löslichkeitsverhältnisse: Der Stoff löst sich leicht in heissem Chloroform, Essigsäureanhydrid, schwer in heissem absol. Alkohol, nicht in kaltem oder heissem Spiritus, ebenso wenig in heissem Aether. Aus obigen Lösungsmitteln scheidet sich der Stoff beim Erkalten fast vollständig aus.

Cholesterinreactionen gibt der Stoff nicht.

Kalilauge, wässerige oder alkoholische, wirkt nicht, auch bei mehrstündigem Kochen. Mit einem Ueberschuss von gepulvertem Kali und einigen Tropfen absolutem Alkohol mehrstündig geschmolzen, bis zuletzt das Gefäss völlig durchbohrt wurde, ging nichts in die wässerige Lösung. Der Schmelzpunkt des Stoffes blieb nach Reinigen auch unverändert.

Mit Essigsäureanhydrid erhitzt, konnte aus dem Stoffe kein Ester isolirt werden. Vielleicht ist dies durch die geringen angewandten Mengen zu erklären. Der Versuch soll darum noch einmal wiederholt werden.

Es ist also deutlich genug erwiesen, dass der Stoff nicht eine Wachsart ist, kein zusammengesetzter Stoff, kein Ester, sondern entweder ein indifferenter Körper (z. B. ein Kohlenwasserstoff), oder ein Alkohol, gleich Cholesterin und dessen Homologen und Isomeren. — Nun wurde ein Versuch mit 45,5 % Bromwasserstoffsäure gemacht, womit die Substanz nach und nach bis 210—220° C. erhitzt wurde. Jetzt unterlag sie einer Spaltung. Man erhielt eine in Alkohol, Aether und den für Fette gewöhnlichen Lösungsmitteln ziem-

lich leicht lösliche Substanz, die bromhaltig und leicht zu reinigen war. Diese Substanz schmolz bei etwas niedrigerer Temperatur als der ursprüngliche Stoff, um 85—87° C. Doch war der Stoff, womit der Schmelzpunkt bestimmt wurde, vielleicht noch nicht völlig rein.

Beide Stoffe wurden analysirt und folgen hier die erhaltenen Resultate der Analysen.

1. Analyse des (supponirten) Alkohols:

1. 0,249 gr. Subst. gaben 0,7562 CO_2 und 0,3111 H_2O;
2. 0,1973 » » » 0,600 CO_2 » 0,2443 H_2O;
3. 0,1346 » » » 0,4088 CO_2 » 0,1657 H_2O.

Diese Zahlen entsprechen genau der Formel $C_{33}H_{66}O$, wie es folgende Zusammenstellung zeigt:

C_{33}	fordert 82,84 %,	gefunden	82,81,	82,92,	82,84;	Mittel	82,86 %.
H_{66}	» 13,80 %,	»	13,88,	13,76,	13,60;	»	13,75 %.
O	» 3,35 %,	»	(3,31),	(3,32),	(3,56);	»	(3,49) %.

Diese Formel, $C_{33}H_{66}O$, würde verdoppelt der Zusammensetzung $\begin{matrix} C_{33}H_{65}O \\ C_{33}H_{67} \end{matrix} > O$ genau entsprechen, eine Formel, die doch unmöglich ist, da eine Saponification in keiner Weise bewirkt werden konnte.

Obgleich obige Formel zwei mit einander doppelt verbundene Kohlenstoffatome haben muss und keine Spaltung beim Schmelzen mit Kali eingetreten ist, so muss sie doch als die richtige gelten. Auch die Brombestimmung des erhaltenen Bromids spricht nicht gegen eine solche Annahme.

2. Brombestimmung des mit Bromwasserstoffsäure erhaltenen Products:

0,238 gr. des Bromids wurden in Alkohol gelöst, etwas Wasser zugefügt und auf das Wasserbad gestellt mit aufwärts gerichtetem Kühler. Natriumamalgam wurde eingetragen und Alles dann längere Zeit schwach erhitzt.

Dann wurde der Flüssigkeit der Alkohol durch Verdunstung entzogen, filtrirt, die zurückgebliebenen Reste ausgewaschen und im Filtrate durch Titrirung das Brom bestimmt.

0,238 gr. Bromid erforderten 4,3 cbcm. $^{1}/_{10}$-Normal-Ag-Lösung, entsprechend 0,0344 Brom oder 14,50 %.

$C_{33}H_{67}Br$ erfordert 14,73 %;
$C_{33}H_{66}Br$ » 14,76 %;
$C_{33}H_{65}Br$ » 14,78 %.

Ist auch hier ein kleiner Verlust an Brom entstanden, so zeigt das Resultat doch, dass man es hier mit einem einwerthigen Alkohol, dessen Formel $C_{33}H_{65}\cdot OH$ am wahrscheinlichsten ist, zu thun hat, denn eine Spaltung in zwei Radicalen hätte fürwahr sehr grosse Unterschiede zu Tage kommen lassen.

Dazu kam noch eine Beobachtung. Nach der Behandlung mit Bromwasserstoffsäure habe ich einmal versucht, das Reactionsproduct mit Kalihydrat zu behandeln. Alles Brom wurde als Bromwasserstoffsäure dem Product entzogen, aber absolut Nichts ging in die Lösung (als Fettsäure). Beim Ansäuren mit Schwefelsäure blieb die Lösung klar und beim Destilliren der sauren Flüssigkeit ging nichts Saures über.

Eine Alkohol ähnlicher Zusammensetzung mit 33 Kohlenstoffatomen ist noch nicht, so weit mir bekannt ist, gefunden worden. Die nächst niedrigeren Homologen sind in den Wachsarten aufgefunden, aber da in Verbindung mit Fettsäuren, zum Theil mit hohem Kohlenstoffgehalte. Vor einiger Zeit hat Liebermann (Berl. Ch. Gesellsch., 1885, S. 1985) eine Untersuchung über die Fett- resp. Wachsarten publicirt, welche er als ein Product einem diesen Blattläusen nahestehenden Insect, der gewöhnlichen Cochenillelaus, entzogen hat. Dies ist ein wabrer Wachsart mit dem Schmelzpunkte 106° C., welches bei der Saponification zwei Körper gibt: Coccerylalkohol, zweiwerthig, mit der Zusammensetzung $C_{30}H_{60}(OH)_2$, und Coccerylsäure, $C_{31}H_{62}O_3$. Diese können hier nicht in Frage kommen. Wenn auch schwer, lässt sich das Wachs hier völlig mit Kali saponificiren und die partielle Saponification geht relativ sehr leicht von Statten. Auch andere kürzlich aufgefundene Alkohole scheinen mir keine Vergleichung mit diesem zuzulassen. Weitere Unter-

suchungen sollen über die Natur des Körpers neue Aufschlüsse geben.

Ich habe dem Körper den Namen Psyllostearylalkohol gegeben, theils um die Abstammung, theils um dessen Zugehörigkeit zur Reihe der Fettalkohole hervortreten zu lassen.

Helsingfors, physiologisch-chemisches Laboratorium, den 1. September 1892.

Ueber einige Bestandtheile des Nervenmarks und ihre Verbreitung in den Geweben des Thierkörpers.

Von

A. Kossel und **Fr. Freytag.**

(Mitgetheilt von A. Kossel.)

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 30. September 1892.)

Die physiologische Bedeutung des Nervenmarks und sein Verhältniss zur Function des Axencylinders ist noch völlig in Dunkel gehüllt. Auf diesem Gebiete, wo noch jede physiologische Vorstellung fehlt, muss den durch chemische oder anatomische Beschreibung gewonnenen Kenntnissen eine um so grössere Aufmerksamkeit zugewandt werden, denn diese bilden die natürliche Grundlage für den späteren Aufbau physiologischer Anschauungen und für die Beurtheilung pathologischer Verhältnisse.

Ebenso wie die Resultate der chemischen Beschreibung für uns ohne Werth bleiben, wenn sie nicht mit den anatomischen Ergebnissen in Beziehung gesetzt werden, so ist auch die Anatomie auf dem Gebiete der feineren Structur der Nervenfaser ohne die Chemie ganz hilflos. Die Kenntniss der chemischen Bestandtheile allein kann zu einer rationellen histologischen Methodik führen und die Kenntniss der Form gewinnt nur dadurch Werth, dass man auch die Stoffe kennt, welche in dieser Form enthalten sind.

Seitdem man weiss, dass die eigenthümlichsten Bestandtheile des Nervenmarks, die Protagone und Cerebrine, auch in anderen, nicht nervösen, Gewebstheilen enthalten sind, hat

das Studium dieser Substanzen ein neues Interesse gewonnen. Wir finden in den ursprünglichen Zellen gewisse Stoffe vorgebildet, welche bei der Entwickelung der embryonalen Gewebselemente zu markhaltigen Nervenfasern an relativer Masse zunehmen und zugleich gewisse Veränderungen in ihrem chemischen Bau erfahren. Es erscheint also bei dieser Betrachtung die Entwickelung des Nervenmarks aus der ursprünglichen Zelle nicht allein als ein morphologisches, sondern auch als ein chemisches Problem. Die chemische Untersuchung des Nervenmarks wird vorerst kaum im Stande sein, eine der alten Fragen über die Function der Nerven zu lösen, wohl aber wird sie neue Fragen und neue Gesichtspunkte bringen.

Unsere Untersuchungen haben sich zunächst dem Protagon und seinen Spaltungsproducten, den «Cerebrasiden», zugewendet.

1. Ueber das Protagon.

Die umfangreiche Literatur über die phosphorhaltigen Bestandtheile der Nerven gibt ein Zeugniss dafür, dass die Chemiker seit 80 Jahren immer von Neuem bemüht gewesen sind, über das Wesen dieser Substanzen Klarheit zu erhalten, dass aber unsere Kenntnisse nur sehr langsame Fortschritte gemacht haben. Allmälig hat sich durch Frémy's[1]) und besonders durch Liebreich's[2]) Untersuchungen ergeben, dass unter den phosphorhaltigen organischen Bestandtheilen der Nervensubstanz einer vorhanden ist, welcher sich durch seine Krystallisationsfähigkeit vor den übrigen auszeichnet. Liebreich nannte diesen Körper Protagon. Eine Zusammenstellung der neueren Literatur über diese Substanz ist zu wiederholten Malen, zuletzt in den Abhandlungen von Gamgee und Blankenhorn[3]) und von Baumstark[4]) veröffentlicht. Wir verzichten daher auf eine nochmalige Wieder-

---

[1]) Annales de chimie et de physique, Troisième Série, T. II, 1841, S. 463.
[2]) Annalen der Chemie und Pharmacie, 134, N. F., Bd. 58, 1865, S. 29.
[3]) Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 260.
[4]) Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 145.

gabe derselben. Bezüglich der älteren Untersuchungen ist zu bemerken, dass bereits Vauquelin[1]) (1812) und Couerbe[2]) (1834) dieselbe Substanz in unreinem Zustande vor sich hatten. Vauquelin nannte sie «matière grasse blanche», Couerbe bezeichnete sie als «cérébrote». Die Untersuchungen von Vauquelin, «étant faits à une époque où l'esprit ne poussait pas la curiosité jusqu'à la connaissance du nombre et du rapport des éléments qui composent les principes organiques»[3]), haben für uns kaum noch Interesse. Couerbe fand in dem Cérébrote 67,8% C, 11,1% H, 3,4% N, 2,1% S, 2,3% P. Frémy (1841, l. c.) führt das Protagon als «acide cérébrique» an, seine Analysen sind weiter unten angeführt.

Dass das Protagon der Markscheide und nicht dem Axencylinder oder den Nervenzellen angehört, geht aus den Untersuchungen von Frémy[4]), Petrowsky[5]) und Raske[6]) im Vergleich mit den folgenden Thatsachen hervor. Frémy gibt an, er habe die «substances grasses» nur in der weissen, nicht in der grauen Substanz des Gehirns gefunden. Petrowsky und später Raske bewiesen, dass das Cerebrin aus der marklosen Nervenmasse entweder gar nicht oder doch nur in verschwindend geringer Menge dargestellt werden kann. Die folgenden Untersuchungen charakterisiren aber das Cerebrin als Spaltungsproduct des Protagons, folglich kann auch das Protagon nur im Nervenmark vorhanden sein.

Wir beabsichtigten nicht, das von den verschiedenen Forschern genauer bearbeitete Protagon einer erneuten analytischen Untersuchung zu unterwerfen, sondern wir bezweckten nur, uns das Ausgangsmaterial für die folgenden Versuche zu beschaffen. Bei dieser Gelegenheit machten wir einige Beobachtungen über das Protagon, die wir nicht unerwähnt lassen wollen.

---

[1]) Annales de chimie et de physique, T. 81, S. 37, 1812.
[2]) Annales de chimie et de physique, T. 56, 1834, S. 160.
[3]) Couerbe, l. c.
[4]) L. c., S. 486.
[5]) Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. VII, S. 367 (1873).
[6]) Diese Zeitschrift, Bd. X, S. 336 (1886).

Nach den oben erwähnten Untersuchungen von Gamgee und Blankenhorn und von Baumstark müsste man annehmen, dass das Protagon ein Körper sei, der sich ziemlich leicht im Zustand völliger Reinheit darstellen lässt, denn die Analysen führten zu den übereinstimmenden Zahlen, welche weiter unten angegeben sind. Wir bezweifeln nicht, dass es bei genauer Innehaltung der von diesen Autoren gegebenen Vorschriften gelingen mag, einheitliche Präparate zu erzielen.

Auch wir erhielten unter gewissen Bedingungen Substanzen, deren Zusammensetzung den Angaben dieser Forscher entsprach. Daneben wurden aber von uns andere Präparate gewonnen, die trotz grosser Sorgfalt bei der Darstellung zu abweichenden analytischen Ergebnissen führten. Damit stimmt auch die Thatsache überein, dass Liebreich's mit der grössten Vorsicht und Sachkenntniss dargestellte Präparate unter sich erhebliche Abweichungen im Kohlenstoff- (66,2—67,4 %) und Wasserstoff-Gehalt (11,1—12,6 %) zeigen. Wir schliessen aus diesen Thatsachen, dass es neben dem Protagon, welches von Gamgee und Blankenhorn analysirt ist, noch eine Gruppe von Stoffen gibt, welche ebenfalls als Protagone bezeichnet werden müssen, da sie in ihrer Zusammensetzung und in ihren Eigenschaften demselben sehr ähnlich sind.

Wir werden in dieser Annahme durch mehrere Gründe bestärkt. Aus dem Protagon entstehen zwei, vielleicht auch drei homologe resp. ähnliche Substanzen, die wir nach Thudichum's[1]) Vorgang unter dem Namen der Cerebroside zusammenfassen wollen, diese sind: das Cerebrin, das Kerasin oder Homocerebrin[2]) und das Enkephalin. Wir dürfen hieraus mit einiger Wahrscheinlichkeit folgern, dass die complicirte Muttersubstanz, aus welcher diese Homologen oder ähnliche Verbindungen hervorgehen, nicht eine einzige Verbindung sei, sondern dass es mehrere Protagone gibt, wie mehrere Fette

---

[1]) Thudichum, Grundzüge der anatomischen u. klinischen Chemie, Berlin 1886.

[2]) Wir ziehen den von Thudichum benutzten Namen Kerasin der Kürze wegen vor.

oder Lecithine existiren. Auch kennen wir durch die Untersuchungen Drechsel's[1]) einen Körper, der in seiner chemischen Constitution dem Protagon ähnlich, aber mit ihm doch nicht identisch ist, nämlich das Jecorin, und dieser Stoff soll nach Baldi[2]) auch im Gehirn vorkommen.

Als Kennzeichen der Protagone betrachten wir folgende:

1. Die Substanzen enthalten C, H, N, O, P, zum Theil auch S.

2. Sie liefern bei der Oxydation mit Salpetersäure höhere Fettsäuren.

3. Unter der Einwirkung siedender Schwefelsäure oder Salzsäure werden reducirende Kohlehydrate gebildet.

4. Aus allen Protagonen entstehen durch gelinde Einwirkung der Alkalien die Cerebroside, welche bei weiterer Spaltung in Ammoniak, Zuckerarten (Galactose) und einen dritten Atomcomplex zerfallen; letzterer liefert bei der Oxydation mit Salpetersäure oder beim Schmelzen mit Kali höhere Fettsäuren.

Da die Bildung von Cerebrosiden aus dem Jecorin noch nicht erwiesen ist, so können wir diese Substanz freilich noch nicht mit Sicherheit zu den Protagonen zählen, obgleich dieser phosphorhaltige Körper höhere Fettsäuren und ein reducirendes Kohlehydrat liefert.

In Bezug auf die Darstellung der Protagone ist zu bemerken, dass die Löslichkeit derselben durch die Gegenwart anderer Substanzen beeinflusst wird, besonders durch jenen Körper, welchen Frémy als acide oléophosphorique und Thudichum als Kephalin bezeichnet[3]). Diese Substanz ist in der Nervensubstanz in salzartiger Verbindung mit Basen enthalten und diese Salze sind, wie das Protagon, in kaltem Alkohol schwer löslich, in heissem leicht löslich und fallen beim Erkalten des Alkohols mit dem Protagon aus. Die

---

[1]) Journal für practische Chemie, N. F., Bd. 33, 1886, S. 425.

[2]) Archiv für Anatomie und Physiologie, Physiologische Abtheilung, 1887, Supplement-Bd., S. 100—108.

[3]) Diese Substanz ist dem Lecithin sehr ähnlich, aber nicht mit Lecithin identisch.

Kephalinsalze sind in Aether sehr leicht löslich und diese Lösung ist im Stande, das an sich in kaltem Aether schwer lösliche Protagon in grossen Mengen aufzulösen. Verdunstet man nun den Aether, welcher Kephalin und Protagon zugleich enthält, und versucht man den Rückstand (nach längerem Stehen im trockenen Zustand) wieder in Aether zu lösen, so bleibt das Protagon zum grössten Theil zurück, während das Kephalin völlig in die ätherische Lösung hineingeht. Diese von uns beobachteten Thatsachen gewähren ein Verständniss für die Darstellung von Frémy's Cerebrinsäure. Den aus ätherischer Lösung gewonnenen und bei erneutem Zusatz von Aether ungelöst zurückbleibenden Körper nannte Frémy «acide cérébrique».

Wenn man das Protagon durch Umkrystallisiren aus Alkohol und durch Waschen mit Aether vom Lecithin und Kephalin befreit hat, so kann man sich von der Abwesenheit dieser Körper durch Prüfung mit Osmiumsäure überzeugen. Das Protagon färbt sich nicht mit diesem Reagens, wie bereits Gad und Heymans angegeben haben[1]), während Lecithin und Kephalin sofort schwarze Färbung annehmen.

Wir stellten einige Protagon-Präparate nach dem Verfahren von Liebreich und von Gamgee und Blankenhorn dar (Präp. VII, VIII, X), ferner untersuchten wir den aus ätherischer Lösung gewonnenen Theil, welcher Frémy's Cerebrinsäure entspricht (Präp. III, IV, V). Die Angaben der früheren Untersucher können wir im Wesentlichen bestätigen. Bei der Analyse ergab sich nur insofern eine Abweichung, als unsere Präparate sämmtlich Schwefel enthielten.

Präp. I. 1,4997 gr. Protagon (bei 110° getr.) gab 0,0851 gr. $BaSO_4$, d. i. 0,78 % S[2]).
Präp. II. 0,7313 gr. Protagon gab 0,0463 gr. $BaSO_4$, d. i. 0,87 % S.
Präp. III. 0,4230 gr. Protagon gab 0,0284 gr. $BaSO_4$, d. i. 0,92 % S.
Präp. IV. 1,0394 gr. Protagon gab 0,0664 gr. $BaSO_4$, d. i. 0,88 % S.
Präp. V. 0,9682 gr. Protagon gab 0,0552 gr. $BaSO_4$, d. i. 0,78 % S.
Präp. X. 0,9992 gr. Protagon gab 0,0372 gr. $BaSO_4$, d. i. 0,511 % S.
Dasselbe. 1,0314 gr. Protagon gab 0,0381 gr. $BaSO_4$, d. i. 0,507 % S.

---

[1]) Archiv f. Anatomie u. Physiologie, Physiolog. Abth., 1890, S. 530.
[2]) Ein Theil der Schwefel- und Phosphorbestimmungen ist von Herrn Dr. M. Krüger ausgeführt worden, dem wir unseren besten Dank abstatten.

Beim Schmelzen des Protagons mit Alkali bildet sich nur Kaliumsulfat, kein Schwefelkalium, der Schwefel ist also in oxydirter Form, vielleicht als gepaarte Schwefelsäure vorhanden. Bereits Couerbe hatte den Schwefel als Bestandtheil seines Cerebrots angegeben; da es aber als erwiesen galt, dass dieser Forscher kein reines Präparat in Händen hatte, und da Frémy den Schwefelgehalt dieses Körpers ausdrücklich auf Verunreinigung mit Eiweiss zurückführte[1]), so ist die Frage nach dem Schwefelgehalt des Protagons völlig aus den späteren Abhandlungen verschwunden.

Diejenigen Präparate des Protagons, welche nach einem Verfahren gewonnen waren, welches der Darstellungsweise von Gamgee und Blankenhorn ähnlich ist, zeigten in den Fällen auch den gleichen Phosphorgehalt, z. B.:

Präp. VI. 0,4742 gr. Substanz gaben 0,0181 gr. $Mg_2P_2O_7$, d. i 1,066 % P.
Präp. VII. 1,0421 gr. Substanz gaben 0,0390 gr. $Mg_2P_2O_7$, d. i. 1,045 % P.

Gamgee und Blankenhorn fanden im Mittel 1,068 % P, fast die gleiche Zahl ergibt sich aus Baumstark's Analysen. Hingegen erhielten wir einen höheren Phosphorgehalt in denjenigen Präparaten, welche das ätherische Extract geliefert hatte, z. B.:

Präp. IV. 0,7475 gr. Substanz gaben 0,0360 gr. $Mg_2P_2O_7$, d. i. 1,35 % P.

Wir stellten im Wesentlichen nach dem von Liebreich und Blankenhorn und Gamgee benutzten Verfahren eine grössere Menge Protagon aus Rindshirn dar, um es der Spaltung zu unterwerfen.

Wir führen die Darstellung und die Analyse desjenigen Präparats, welches zu den folgenden Spaltungsversuchen diente, etwas ausführlicher an.

50 frische Rindsgehirne wurden möglichst von den Häuten und Gefässen befreit, zerhackt und mit Alkohol von 85 % bei gewöhnlicher Temperatur 24 Stunden digerirt. Darauf wurde der Alkohol abgegossen und abgepresst und die Hirnmasse zunächst einer Aetherextraction unterworfen. Der vom Aether

[1]) Diese Behauptung Frémy's war unrichtig, denn Couerbe's Cerebrot enthielt mehr Schwefel, als das Eiweiss selbst enthält.

nicht gelöste Theil wurde mit 85procentigem Alkohol mehrere Stunden bei 50° digerirt, der Alkohol abgegossen. Beim Erkalten scheidet sich das Protagon aus. Die Extraction mit heissem Alkohol wurde so lange fortgesetzt, als dieser noch beim Erkalten eine nennenswerthe Ausscheidung von Protagon ergab. Das Protagon wurde nun noch zur Entfernung des Cholesterins mit Aether ausgewaschen. Die Menge des reinen Protagons betrug 150 gr. Bei dieser Darstellung wurden wir in Folge freundlicher Vermittelung des Herrn Dr. Bannow durch die Fabrik von C. A. F. Kahlbaum unterstützt, wofür wir unseren besten Dank abstatten.

Die Analyse dieses Protagon-Präparats ergab Folgendes:

1. 0,2644 gr. Protagon gaben 0,6404 gr. CO_2 und 0,2758 gr. H_2O, d. i. 66,08 % C und 11,48 % H.
2. 0,2366 gr. Protagon gaben 0,5758 gr. CO_2 und 0,2344 gr. H_2O, d. i. 66,35 % C und 11,00 % H.
3. 0,1092 gr. Protagon gaben 0,2654 gr. CO_2 und 0,1072 gr. H_2O, d. i. 66,32 % C und 10,92 % H.
4. 0,629 gr. Protagon gaben 17,9 cbcm. N bei 21° und 751 mm. Bar., d. i. 3,20 % N.
5. 0,5562 gr. Protagon gaben 15,5 cbcm. N bei 18,9° und 757,5 mm. Bar., d. i. 3,28 % N.
6. 0,5224 gr. Protagon gaben 14,5 cbcm. N bei 21,5° und 762,5 mm. Bar., d. i. 3,27 % N.
7. 0,8092 gr. Protagon gaben 0,0277 gr. $Mg_2P_2O_7$, d. i. 0,96 % P.
8. 0,8136 gr. Protagon gaben 0,0279 gr. $Mg_2P_2O_7$, d. i. 0,95 % P.
9. 0,7979 gr. Protagon gaben 0,0283 gr. $Mg_2P_2O_7$, d. i. 0,99 % P.

10 und 11. S-Best. s. oben Präp. X.

Ein besonderer Versuch ergab, dass das Protagon frei von Alkalien war.

Die Resultate unserer Analysen sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
C	66,08	66,35	66,32	—	—	—	—	—	—	—	—
H	11,48	11,00	10,92	—	—	—	—	—	—	—	—
N	—	—	—	3,20	3,28	3,27	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—	0,96	0,95	0,99	—	—
S	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,511	0,507

Das Verhältniss des Mittels aus den Analysen dieses Präparates zu den Ergebnissen der früheren Untersucher

ist aus folgender Zusammenstellung ersichtlich. Da es für die folgenden Versuche nicht unbedingt nothwendig war, einen der Körper, welche unter dem Namen der «Protagone» zusammengefasst werden, zu isoliren, so haben wir eine weitere Fractionirung dieses Präparates nicht vorgenommen. Wir lassen daher die Frage nach der chemischen Individualität desselben vorläufig unberührt und es muss späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, zu entscheiden, ob etwa das Kerasin aus dem einen, das Cerebrin aus einem anderen Protagon hervorgeht, ob man Protagone herstellen kann, die schwefelfrei sind u. s. w.

	Cerebrinsäure Frémy's.	Protagon von			Mittel unserer Analysen. Präp. X.
		Liebreich.	Gamgee und Blankenhorn.	Baumstark.	
C . . .	66,7	66,74	66,39	66,48	66,25
H . . .	10,6	11,74	10,69	11,12	11,13
N . . .	2,3	2,80	2,39	2,35	3,25
P . . .	0,9	1,23	1,06	1,02	0,97
S . . .	—	—	—	—	0,51
O . . .	19,5	17,40	19,46	—	17,85

2. Bildet sich Cerebrin und Kerasin aus Protagon?

Die Frage, ob das Cerebrin als chemisches Individuum im Nervenmark vorhanden ist, oder ob es aus der Zersetzung einer höheren Verbindung hervorgeht, ist bisher noch zweifelhaft geblieben. Hoppe-Seyler betrachtete das Protagon als lockere Verbindung von Lecithin und Cerebrin. Nach Parcus[1]) sind die Cerebroside wahrscheinlich als solche in der Nervensubstanz vorgebildet, Baumstark erhielt aus dem Protagon eine cerebrinähnliche, nicht analysirte Substanz, Thudichum ist der Ansicht, dass die Cerebroside nicht aus einer complicirteren phosphorhaltigen Verbindung hervorgehen.

[1]) Parcus, Ueber einige neue Gehirnstoffe, Inaug.-Diss., Leipzig 1881. — Derselbe, Journal für pract. Chemie, (2), Bd. 24, S. 310.

Die Entscheidung dieser Frage musste nach unserer Ansicht allen weiteren Untersuchungen über das Nervenmark vorangehen. Wir glauben durch die folgenden Versuche den sicheren Nachweis geliefert zu haben, dass das Cerebrin und das Kerasin wirklich Zersetzungsproducte der Protagone sind.

Zur Gewinnung der Cerebroside hat man bisher die Gehirnsubstanz mit siedendem Barytwasser zersetzt und aus dem abgeschiedenen Gemisch die Cerebroside mit Alkohol ausgezogen. Diese Methode hat grosse Nachtheile. Kocht man die Gehirnmasse längere Zeit mit Barytwasser, so tritt eine Zersetzung der Cerebroside ein. Wirkt hingegen das Barytwasser kürzere Zeit, so erhält man ein Gemisch von Cerebroside mit phosphorhaltigen organischen Verbindungen, welches nicht zu trennen ist.

Wir wandten für die Zersetzung des Protagons ein Verfahren an, welches eine quantitative Ausbeute an Cerebrin und Kerasin liefert und allgemeiner Anwendung für die Darstellung von Cerebrosiden fähig ist. Das Protagon wurde in Methylalkohol gelöst und die Lösung bei Wasserbadtemperatur mit einer methylalkoholischen Lösung von Aetzbaryt versetzt. Sofort bildet sich ein voluminöser, weisser Niederschlag, welcher eine Verbindung von Cerebrin und Kerasin mit Baryt enthält. Man digerirt die Flüssigkeit noch einige Minuten auf dem Wasserbad und filtrirt sodann den Niederschlag ab. Derselbe wird mit barythaltigem Methylalkohol einmal ausgewaschen und in Wasser zertheilt. Durch die Flüssigkeit leitet man jetzt einen anhaltenden Strom von Kohlensäure, filtrirt den aus kohlensaurem Baryt und Cerebrosiden bestehenden Niederschlag ab, wäscht denselben mit Alkohol und zieht ihn sodann bei 50° mit absolutem Alkohol aus. Bei dieser Temperatur gehen die Verunreinigungen, welche sonst den Cerebrosiden hartnäckig anhaften, insbesondere die Barytseifen der höheren Fettsäuren, nur zum geringen Theil in den Alkohol über. Die letzten Reste barythaltiger Verbindungen werden entfernt, indem man sie zunächst in der von Parcus beschriebenen Weise anreibt und mit einem anhaltenden Strom von Kohlensäure behandelt. Den abfiltrirten Niederschlag nimmt man mit absolutem Alkohol bei 50° auf.

Aus dem Alkohol krystallisirt beim Erkalten auf Zimmertemperatur zunächst vorwiegend Cerebrin, welches nach zwei Stunden abfiltrirt wird, später vorwiegend Kerasin, dessen Abscheidung erst nach 5—6 Tagen beendet ist. Nach dem Eindampfen des Alkohols erhält man weitere Mengen dieser Substanzen. Die vollständige Zerlegung der Gemische in Cerebrin und Kerasin war nach achtmaligem Umkrystallisiren aus Alkohol erreicht.

Auf die Darstellung des Enkephalins mussten wir verzichten, da wir bei der Verarbeitung der geringen Mutterlaugen keine zuverlässigen Resultate erwarteten.

Die Eigenschaften und die Ergebnisse der Analysen stimmen vollkommen mit den Resultaten der früheren Forscher überein.

Das Cerebrin stellte ein weisses, kreideähnliches Pulver dar, welches sich unter dem Mikroskop als aus kleinen, häufig radiär gestreiften Knöllchen bestehend erwies. In concentr. Schwefelsäure löst es sich langsam, bei schwachem Erwärmen nimmt die Lösung eine blutrothe Färbung an.

Mit verdünnter Schwefelsäure gekocht liefert es eine reducirende Zuckerart, welche nach Thierfelder mit Galactose identisch ist.

Unser Präparat schmolz bei 176°. Parcus gibt 170° als Schmelzpunkt an.

Dasselbe enthielt noch eine Spur barythaltiger Asche. Die Analysen[1]) führten zu folgenden Zahlen:

1 0,1485 gr. Substanz gaben 0,3754 gr. Kohlensäure und 0,1567 gr. Wasser, d. i. 69,09 % C und 11,74 % H.

2. 0,0904 gr. Substanz gaben 0,2277 gr. CO_2 und 0,0936 gr. H_2O, d. i. 68,87 % C und 11,50 % H.

3. 0,1011 gr. Substanz gaben 0,2556 gr. CO_2 und 0,1035 gr. H_2O, d. i. 69,10 % C und 11,40 % H.

4. 0,1025 gr. Substanz gaben 0,2585 gr. CO_2 und 0,1058 gr. H_2O, d. i. 68,91 % C und 11,43 % H.

5. 0,5498 gr. Substanz gaben 11,3 cbcm. Stickstoff bei 19,5° und 741 mm. Bar., d. i. 2,29 % N.

---

[1]) Bei der Berechnung der Analyse ist die Asche in Abzug gebracht.

6. 0,6764 gr. Substanz lieferten 13,80 cbcm. Stickstoff bei 18,5° und 745 mm. Bar., d. i. 2,30 % N.
7. 0,6345 gr. Substanz lieferten 12,1 cbcm. Stickstoff bei 20,2° und 762 mm. Bar., d. i. 2,19 % N.
8. 0,4498 gr. Substanz gaben 0,0009 gr. Asche, d. i. 0,2 %.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
C	69,09	68,87	69,10	68,91	—	—	—
H	11,74	11,50	11,40	11,43	—	—	—
N	—	—	—	—	2,29	2,3	2,19

In der folgenden Tabelle ist das Mittel dieser Analysen mit den Ergebnissen von Müller[1]), Geoghegan[2]), Parcus[3]) und Thudichum[4]) zusammengestellt.

	Müller (1858).	Geoghegan (1879).	Parcus (1881).	Thudichum[5]) (1886) («Phrenosin»).	K. u. F. (1891).
C . . .	68,45	68,74	69,08	69,00	68,99
H . . .	11,20	10,91	11,47	11,08	11,52
N . . .	4,60	1,44	2,13	1,96	2,25
O . . .	15,75	18,91	17,32	17,96	17,24

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, dass die für unser aus Protagon dargestelltes Cerebrin gefundenen Zahlen mit denen von Parcus genau übereinstimmen. Thudichum's Phrenosin vom Jahre 1886 ist wahrscheinlich als ein fast reines Cerebrin zu betrachten. Die früheren Angaben von Thudichum weichen viel mehr von unseren und den Parcus'schen Ergebnissen ab.

Diejenigen Formeln, welche mit diesen Analysenzahlen stimmen, sind, wie schon Parcus anführt, folgende:

1. $C_{70}H_{140}N_2O_{13}$.
2. $C_{76}H_{154}N_2O_{14}$.
3. $C_{80}H_{160}N_2O_{15}$.

[1]) Müller, Ann. d. Chem., 105, N. R., Bd. 29, 1858, S. 36.

[2]) Geoghegan, diese Zeitschrift, Bd. 3, S. 332.

[3]) Parcus, l. c.

[4]) Thudichum, Grundzüge der anatomischen u. klinischen Chemie, S. 53, Berlin 1886.

[5]) Aus den Angaben Thudichum's ergibt sich nicht, ob es sich um eine einzelne Analyse oder einen Mittelwerth handelt.

Das Kerasin oder Homocerebrin, welches aus Protagon dargestellt wurde, entsprach völlig der Beschreibung von Parcus. Besonders auffallend ist die physikalische Beschaffenheit, welche von der des Cerebrins sehr abweicht. Das Kerasin scheidet sich aus seinen Lösungen zuweilen in Flocken, meist als durchsichtige Gallerte ab, welche aus sehr feinen und langen, nur bei stärkerer Vergrösserung sichtbaren Nadeln besteht. Beim Trocknen schrumpft es zu einer hornartigen Masse ein. Beim vorsichtigen Erhitzen sinterte es bei 130° unter schwacher Gelbfärbung zusammen und schmolz bei 156° zu klarer Flüssigkeit. Parcus gibt 155° als Schmelzpunkt an. Beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure lieferte es, ebenso wie das Cerebrin, eine reducirende Substanz. Unser Präparat hinterliess beim Verbrennen keine Spur von Asche.

Die Analysen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. 0,0878 gr. Substanz lieferten 0,2254 gr. CO_2 und 0,0928 gr. H_2O, d. i. 70,04 % C und 11,71 % H.
2. 0,1109 gr. Substanz lieferten 0,2842 gr. CO_2 und 0,1156 gr. H_2O, d. i. 69,91 % C und 11,59 % H.
3. 0,1013 gr. Substanz lieferten 0,2597 gr. CO_2 und 0,1064 gr. H_2O, d. i. 69,99 % C und 11,65 % H.
4. 0,0987 gr. Substanz lieferten 0,2536 gr. CO_2 und 0,1032 gr. H_2O, d. i. 70,09 % C und 11,64 % H.
5. 0,6390 gr. Substanz lieferten 12,3 cbcm. Stickstoff bei 17,5° und 750 mm. Bar., dies ergibt 2,20 % N.
6. 0,5306 gr. Substanz gaben 10,7 cbcm. Stickstoff bei 22,5° und 761 mm. Bar., d. i. 2,28 % N.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.
C	70,04	69,91	69,99	70,09	—	—
H	11,71	11,59	11,65	11,64	—	—
N	—	—	—	—	2,20	2,28

	«Homocerebrin» von Parcus (1881).	Kerasin aus Ochsenhirn von Thudichum (1886).	Mittel der Analysen des Kerasins aus Protagon K. und F. (1891).
C	70,06	69,54	70,00
H	11,595	11,69	11,69
N	2,23	1,92	2,24
O	16,11	16,85	16,14

Auch in diesem Fall zeigte sich eine vollständige Uebereinstimmung der Analysen unseres aus Protagon dargestellten Körpers mit dem Homocerebrin von Parcus. Die im Jahre 1886 von Thudichum publicirte Analyse weicht schon einigermassen von unseren Ergebnissen ab. Es scheint, als ob den Analysen Thudichum's nur ein fast reines Präparat zu Grunde gelegen habe, obgleich es durch «häufiges Umkrystallisiren» von 70 gr. Kerasin gewonnen war. Noch weniger rein scheinen die übrigen von Thudichum analysirten Kerasinpräparate gewesen zu sein.

Die Formeln, welche für das Kerasin in Betracht kommen, sind folgende:

1. $C_{70}H_{138}N_2O_{12}$.
2. $C_{76}H_{152}N_2O_{13}$.
3. $C_{80}H_{158}N_2O_{14}$.

Wir haben durch diese Versuche den Beweis geliefert, dass die von uns als Cerebrin und Kerasin bezeichneten, aus dem Protagon dargestellten Stoffe wirklich mit dem Cerebrin und «Homocerebrin» von Parcus identisch sind.

Die Menge des Cerebrins und Kerasins betrug ungefähr 50 Procent des angewandten Protagons.

Man wird wohl kaum den Einwand machen, dass unser Protagon diese 50 Procent der Cerebroside als Beimengung enthalten habe. Diese Ansicht ist aus folgenden Gründen nicht haltbar:

1. Das Protagon existirt in einer in kaltem Aether ziemlich löslichen, in warmem Aether leicht löslichen Modification. Das Cerebrin ist bisher stets in Aether unlöslich befunden worden, das Kerasin ist sehr schwer in Aether löslich. Wenn diese in Aether z. Th. unlöslichen, z. Th. sehr schwer löslichen Stoffe in einer Menge von 50% aus einem löslichen hervorgehen, so wird man annehmen müssen, dass sie der Zersetzung einer chemischen Bindung ihren Ursprung verdanken.

2. Das Protagon wird durch gewisse Manipulationen, besonders durch die Einwirkung von stärkerem Alkohol, in eine Modification übergeführt, welche in siedendem Alkohol

sehr schwer löslich ist. Kocht man das schwer lösliche Protagon im Alkohol aus, so müsste alles mechanisch beigemengte Cerebrin und Kerasin entfernt werden. 1 gr. schwer lösliches Protagon wurde 5mal mit Alkohol auf dem Wasserbade ausgekocht. Die Alkoholmenge betrug jedesmal 200 cbcm. Beim Erkalten des abfiltrirten Alkohols schied sich jedesmal eine geringe Menge durchsichtiger, mikroskopisch erkennbarer Knollen ab, welche sich als phosphorhaltig erwiesen und bei der Zersetzung mit siedender Schwefelsäure eine reducirende Substanz ergaben, welche also Protagon enthielten. Der nach fünfmaligem Auskochen gebliebene Rückstand in der oben beschriebenen Weise mit Baryt zersetzt, lieferte noch Cerebrin, als einen in warmem Alkohol leicht löslichen Körper. Diese Thatsache kann nur durch eine, wenn auch lockere Bindung des Cerebrins im Protagon erklärt werden.

3. Die Krystalle des Protagons sind leicht von denen des Cerebrins und Kerasins zu unterscheiden. Erstere bilden ziemlich scharf conturirte Knollen mit gezackten Rändern (radiär gestellte Blättchen), das Cerebrin zeigt schwach lichtbrechende Knollen mit glatten Rändern, das Kerasin eine verfilzte Masse von feinen langen Nadeln. Eine Beimischung, wenn auch nur in geringen Mengen, liesse sich bei mikroskopischer Untersuchung nicht übersehen.

Unsere Untersuchungen führen somit zu dem Schluss, dass sowohl das Cerebrin wie das Kerasin als Zersetzungsproducte des Protagons zu betrachten sind.

3. Bestimmung des Molekulargewichts vom Kerasin mit Hilfe der Siedemethode.

Während Parcus für das Cerebrin und Kerasin die oben erwähnten Formeln mit 2 Atomen Stickstoff discutirte, glaubt Thudichum der Formel $C_{41}H_{79}NO_8$ für das Cerebrin (Phrenosin) den Vorzug ertheilen zu müssen und gibt für das Kerasin Formeln mit 42, 44 und 46 Atomen Kohlenstoff.

Wir haben versucht, durch die Siedemethode von Beckmann einige Anhaltspunkte für die Grösse des Moleküls zu

gewinnen. Es wurde für diese Versuche das Kerasin als die leichter lösliche Substanz gewählt. In Anbetracht der Grösse des Molekulargewichts konnte nur eine annähernde Richtigkeit erwartet werden. Als Lösungsmittel diente Eisessig.

	Gelöste Menge des Kerasins.	Erhöhung des Siedepunktes.	Daraus berechnetes Molekulargewicht.
	Versuch 1. 48,1 gr. Eisessig.		
1.	0,5930	0,033	945,2
	Versuch 2. 50,3 gr. Eisessig.		
2a.	0,6330	0,031	1027
2b.	0,5674	0,034	972

Die Formeln, welche nach unseren Analysen in Betracht kommen, ergeben folgende Molekulargewichte:

$C_{80}H_{158}N_2O_{14}$	$C_{76}H_{152}N_2O_{13}$	$C_{70}H_{138}N_2O_{12}$	$C_{36}H_{72}NO_6$
1370	1300	1198	614

Eine Entscheidung zwischen den angeführten Formeln lässt sich durch diese Versuche nicht treffen, wohl aber kann man ein Multiplum der Formeln mit 2 Atomen Stickstoff ausschliessen. Weitere Anhaltspunkte für die Grösse des Molekulargewichts ergeben sich aus den folgenden Versuchen.

4. Ueber einige Verbindungen des Cerebrins und Kerasins.

Barytverbindung. Aus der von uns benutzten Darstellungsweise der Cerebrine geht hervor, dass diese Substanzen Verbindungen mit Baryt bilden können. Wir haben in der im Vacuum getrockneten, mit Alkohol ausgewaschenen Barytverbindung des Cerebrins 1) 19,48, 2) 19,74, 3) 19,93 % Baryt (BaO) gefunden. Unter der Einwirkung der Kohlensäure zerfällt diese lockere Verbindung.

Die Einführung organischer Atomcomplexe in die Cerebroside ist nicht schwierig, aber die entstehenden Verbindungen sind in Alkohol und Aether sehr löslich und krystallisiren nicht leicht, deshalb haben wir sie nicht genauer untersucht. Es sei nur erwähnt, dass man eine Benzoylverbindung des Cerebrins als weiche, wachsartige, in Alkohol

und Aether leicht lösliche Masse erhält, wenn man Cerebrin mit Benzoësäureanhydrid im Oelbade auf 150° erhitzt oder in Benzol gelöstes Cerebrin bei Wasserbad-Temperatur mit Benzoylchlorid digerirt. Auch das Nitrobenzoylcerebrin, welches wir aus Nitrobenzoylchlorid und Cerebrin darstellten, zeigte die gleichen, zur weiteren Untersuchung wenig einladenden Eigenschaften und eben so wenig gelang es uns in der Pikryl- und Benzolsulfon-Verbindung des Cerebrins Substanzen ausfindig zu machen, deren Eigenschaften zu weiterer Untersuchung geeignet gewesen wären.

Bromverbindungen. Wenn man fein zerriebenes Cerebrin in Benzol aufschwemmt und bei einer Temperatur von 30—35° Brom hinzufügt, welches in Benzol gelöst ist, so verschwindet die gelbe Farbe des Broms ziemlich schnell und das Cerebrin geht in Lösung. Zur Darstellung des Bromcerebrins setzt man so lange Brom in Benzol gelöst hinzu, bis weder eine Gelbfärbung durch freies Brom, noch überschüssiges Cerebrin vorhanden ist. Lässt man diese Lösung an der Luft verdunsten, so bleibt eine glasige, fast völlig durchsichtige Schicht zurück, die sich nach mehrtägigem Verweilen im Vacuum pulverisiren lässt. Das Pulver ist in Benzol sehr leicht, in Aether und Alkohol etwas weniger leicht löslich und enthielt in einem Falle 16,66%, in einem zweiten 16,30% Br.

1. 0,5916 gr. Bromcerebrin mit Soda und Salpeter verascht gab 0,2318 gr. AgBr, d. i. 16,66% Br.
2. 0,6093 gr. Bromcerebrin gab 0,2334 gr. AgBr, d. i. 16,30% Br.

Auch die Bromverbindung des Kerasins, die in gleicher Weise dargestellt war, wurde nicht in krystallisirtem Zustande erhalten. Die Analyse des Bromkerasins ergab in einem Falle 17,25% Br, in einem zweiten Falle 16,93% Br.

1. 0,7191 gr. Bromkerasin gab 0,2914 gr. AgBr, d. i. 17,25% Br.
2. 0,7310 gr. Bromkerasin gab 0,2907 gr. AgBr, d. i. 16,93% Br.

Das Bromkerasin ist optisch activ[1]) und zwar beträgt die specifische Drehung $[\alpha]_D = -12^\circ 48'$ bei Zimmertemperatur;

[1]) Eine Untersuchung des Cerebrins und Kerasins im Polarisationsapparat ist wegen der Schwerlöslichkeit dieser Körper bei gewöhnlicher Temperatur nicht ausführbar.

für diese Bestimmung ist eine Lösung in Benzol, enthaltend 11% Bromkerasin, benutzt worden.

Der Bromgehalt entspricht sowohl beim Cerebrin, wie beim Kerasin dem Eintritt von 3 Atomen Brom auf 2 Atome Stickstoff der Cerebroside.

	Berechnet für Tribromcerebrin $C_{70}H_{137}Br_3N_2O_{13}$:	Gefunden:
Br	16,52	16,66 und 16,30.
	Berechnet für Tribromkerasin $C_{70}H_{135}Br_3N_2O_{12}$:	Gefunden:
Br	16,72	17,25 und 16,93.

Diese Ergebnisse stimmen ebenso wie die Molekulargewichts-Bestimmung am besten zu einer Formel mit 70 Atomen Kohlenstoff.

Leider war das schwer zu beschaffende Material, dessen vollständige Analyse von grossem Werth gewesen wäre, mit diesen Brombestimmungen erschöpft.

5. Zersetzung des Cerebrins und Kerasins durch Salpetersäure.

Geoghegan[1]) erhielt durch die Einwirkung der siedenden Schwefelsäure auf Cerebrin eine Substanz, welche er als Cetylid bezeichnete und welche nach seiner Ansicht vielleicht der Formel $C_{22}H_{42}O_5$ entspricht. Das Cetylid entwickelt unter der Einwirkung des schmelzenden Kalis Sumpfgas und Wasserstoff und geht zugleich in Palmitinsäure über.

Thudichum[2]) gibt an, er habe durch die Einwirkung von 2% Schwefelsäure bei 130° auf Phrenosin (Cerebrin) eine Säure von der Zusammensetzung $C_{18}H_{36}O_2$ gewonnen, welche bei 84° schmelze. Thudichum bezeichnet dieselbe als Neurostearinsäure.

Wir haben versucht, die Menge der fetten Säuren zu bestimmen, welche bei der Zersetzung des Cerebrins und Kerasins gebildet werden. Hierbei bedienten wir uns der Salpetersäure,

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. III, S. 332.

[2]) Grundzüge, S. 54 u. f.

welche, wie schon Müller beobachtete, unter Bildung einer fettähnlichen Substanz auf das Cerebringemisch einwirkt.

Müller analysirte dies Product, erkannte es aber nicht — es ist Stearinsäure.

	Müller's Analyse (1858):	Berechnet für Stearinsäure:
C	75,52	76,06
H	12,92	12,67

Wir wurden auf diese Analyse Müller's erst aufmerksam, nachdem wir selbst die Stearinsäure als Oxydationsproduct des Cerebrins und Kerasins nachgewiesen hatten.

Für die quantitativen Bestimmungen der aus dem Cerebrin und Kerasin entstehenden Fettsäuren diente siedende Salpetersäure, welche aus einem Theil concentrirter Salpetersäure und 3 Theilen Wasser zusammengesetzt war. Zunächst überzeugten wir uns, dass eine solche Säure Stearinsäure auch bei längerem Kochen nicht angreift. Dann verfuhren wir in folgender Weise: Die abgewogene Menge des Cerebrins wurde in einem kleinen Kölbchen mit 15 cbcm. concentrirter Salpetersäure vom spec. Gew. 1,52 übergossen, umgeschüttelt und sodann die nöthige Menge Wasser hinzugefügt. Das Gemisch wurde nun mit Rückflusskühler versehen, unter fortwährendem Umschütteln auf dem Wasserbad erwärmt. Die Einwirkung muss Anfangs sorgfältig beobachtet werden, da die Masse heftig schäumt. Wenn die Gasentwickelung nur noch langsam vor sich geht, wird der Inhalt des Kölbchens über kleiner Flamme mehrere Stunden in schwachem Sieden erhalten. Nach dem Erkalten wird die Salpetersäure von der erstarrten Masse abgegossen und letztere zur Entfernung des Restes der Säure noch einige Male mit Wasser ausgekocht. Die Stearinsäure wurde zum Schluss auf einem gewogenen Filter gesammelt, im Wägegläschen bei 90° getrocknet und gewogen.

1. 2,7400 gr. Cerebrin gaben 1,8667 gr. Stearinsäure, d. i. 68,12 %.
2. 0,9300 gr. Cerebrin gaben 0,6360 gr. Stearinsäure, d. i. 68,38 %.
3. 0,9546 gr. Cerebrin gaben 0,6470 gr. Stearinsäure, d. i. 67,67 %.

Die Schmelzpunkte der erhaltenen Fettsäuren lagen alle zwischen 70° und 71,5°. Die geringe Erhöhung des Schmelz-

punktes ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass dieselben eine geringe Menge unzersetztes Cerebrin einschlossen. Durch fractionirte Krystallisation wurden drei Proben dargestellt. Die beiden ersten Fractionen begannen bei 69° zu schmelzen und waren bei 70,5° völlig flüssig, die dritte Fraction begann bei 75° zu schmelzen und war erst bei 78° ganz geschmolzen. Demnach sind die erhaltenen Procentzahlen für die Stearinsäure um ein Geringes zu hoch. Dass in der untersuchten Säure wirklich Stearinsäure vorlag, wurde noch durch die Ueberführung in das Barytsalz und Analyse desselben nachgewiesen. Dasselbe enthielt 19,23 % Ba; stearinsaurer Baryt verlangt 19,48 % Ba, palmitinsaurer Baryt 21,17 % Ba.

In gleicher Weise wurde die Zersetzung des Kerasins ausgeführt.

1. 0,9284 gr. Kerasin gaben 0,6913 gr. Stearinsäure, d. i. 74,46 %.
2. 0,9179 gr. Kerasin gaben 0,6798 gr. Stearinsäure, d. i. 74,06 %.
3. 0,9327 gr. Kerasin gaben 0,6949 gr. Stearinsäure, d. i. 74,50 %.

Auch diese Zahlen sind ein wenig zu hoch. Zwar schmolzen die gewonnenen Fettsäure-Producte übereinstimmend zwischen 69 und 70,5°, aber durch fractionirte Krystallisation liess sich aus denselben eine zwischen 73 und 75° schmelzende Fraction darstellen. Dass auch in diesem Fall der Einfluss geringer Spuren unangegriffenen Kerasins die Ursache für die Erhöhung des Schmelzpunktes war, liess sich leicht nachweisen. Denn ein erneutes Sieden mit Salpetersäure bewirkte eine Erniedrigung des Schmelzpunktes dieses letzten Theils, so dass derselbe zwischeu 69 und 70° lag.

Eine wichtige Schlussfolgerung auf die Constitution des Cerebrins ergibt sich, wenn man die erhaltenen Mengen der Stearinsäure zu dem Stickstoff dieses Körpers in Beziehung setzt. Das Verhältniss beider ist nämlich ein derartiges, dass aus dem Cerebrin drei Moleküle Stearinsäure für je zwei Atome Stickstoff gebildet werden.

Stearinsäure berechnet in Procenten des Cerebrins:	Gefunden: 1.	2.	3.
68,5	68,12	68,38	67,67.

Beim Kerasin ist die Uebereinstimmung nur eine annähernde.

Stearinsäure berechnet in Procenten des Kerasins:	Gefunden: 1.	2.	3.
68,2	74,46	74,06	74,50.

Es ergibt sich also, dass die Resultate der Elementaranalysen, der Molekulargewichtsbestimmungen, der Analyse der Bromverbindungen und des Studiums der Zersetzungsproducte alle zu dem gleichen Resultat führen: zu einer der Formeln mit 2 Atomen Stickstoff, und zwar halten wir für Cerebrin die Formel $C_{70}H_{140}N_2O_{13}$, für das Kerasin die Formel $C_{70}H_{138}N_2O_{12}$ für die wahrscheinlichste.

Die Angabe von Geoghegan, dass durch schmelzendes Kali aus der im Cerebrin oder Kerasin enthaltenen «Cetylid»-Gruppe Palmitinsäure gebildet werde, steht mit unseren Oxydationsversuchen, welche zu Stearinsäure führten, nicht im Widerspruch. Wir erinnern daran, dass Langer[1]) bei der Oxydation der Lycopodiumölsäure eine Isocapronsäure erhielt, während bei der Kalischmelze aus derselben Atomgruppe Isobuttersäure gebildet wurde. Diese Thatsache darf nicht wunderbar erscheinen, wenn man erwägt, dass die mehrfache Bindung der Kohlenstoffatome unter einander in den Molekülen organischer Körper oft mit grosser Leichtigkeit ihren Ort wechselt.

6. Ueber die Verbreitung der Cerebroside im Thierkörper.

Eine scharfe Abgrenzung derjenigen Verbindungen, welche wir als Protagon bezeichnen, ist heute noch nicht möglich. Wie schon oben erwähnt, finden wir in dem Jecorin einen Körper, dessen Zugehörigkeit zur Protagongruppe zwar wahrscheinlich, aber doch noch zweifelhaft ist. Vorläufig müssen wir mit dem Namen «Protagon» alle diejenigen phosphorhaltigen Körper bezeichnen, welche unter Bildung von Cerebrosiden zerlegt werden können. Cerebroside sind

---

[1]) Archiv der Pharmacie, (3), Bd. 27, S. 241; Bd. 265, S. 289; Bd. 309, S. 625.

diejenigen stickstoffhaltigen, phosphorfreien Verbindungen, welche durch die Einwirkung verdünnter Säuren unter Bildung eines reducirenden Kohlehydrats gespalten und ferner durch schmelzendes Kali und durch die Oxydation mit Salpetersäure in eine höhere Fettsäure (Palmitinsäure, Stearinsäure) übergeführt werden.

Die Cerebroside finden sich in allen markhaltigen Nervenfasern. Wir haben, um die Nervenmasse eines tiefstehenden Wirbelthieres zu untersuchen, das Gehirn eines Störs auf Cerebrin verarbeitet. Der Fisch wog 16 Kilo, sein Gehirn in feuchtem Zustand 3 Gramm und davon entfiel noch ein beträchtlicher Theil auf die daran hängenden Enden des Trigeminus. Es gelang uns, aus dieser Nervenmasse ein Cerebrosid (wahrscheinlich Cerebrin) darzustellen und an seinen charakteristischen Eigenschaften, insbesondere an der Bildung des reducirenden Kohlehydrats, zu erkennen.

Das Vorkommen der Cerebroside in den zelligen Elementen wurde zuerst von Hoppe-Seyler[1]) mit Sicherheit festgestellt. Zwar liegt schon eine ältere Angabe von Lehmann[2]) über die «Cerebrinsäure» im Eiter vor, aber es ist unzweifelhaft, dass Lehmann in diesem Falle kein Cerebrosid in Händen gehabt hat.

Hoppe-Seyler (l. c.) erwies, dass diese Substanz theilweise in Verbindung mit einem phosphorhaltigen Atomcomplex aus Alkohol auskrystallisirt, dass sie aber phosphorfrei dargestellt werden kann, dass sie 1,9 % N enthält und bei der Zersetzung mit Schwefelsäure einen reducirenden Körper liefert. Ist diese Substanz Cerebrin, Kerasin, oder Enkephalin? Oder liegt etwa ein neues Glied dieser Gruppe vor?

---

[1]) Hoppe-Seyler, Medic.-chemische Untersuchungen, Berlin 1866—71, S. 486.

[2]) Lehmann, Zoochemie, 1858, in Gmelin-Kraut's Handbuch der Chemie, Bd. 8.

Wir haben zur Entscheidung dieser Frage 4—5 Liter Eiter, welcher hauptsächlich aus pleuritischen Ergüssen stammte, unter Alkohol gesammelt. Die durch den Alkohol coagulirte Eitermasse wurde mit grösseren Mengen Alkohol ausgekocht und filtrirt, beim Erkalten des Alkohols setzte sich ein reichlicher Niederschlag ab, welcher sich bei erneutem Erwärmen mit Alkohol nur zum geringen Theil löste. Aus dem heiss filtirten Alkohol schied sich beim Erkalten eine hellgelbe Masse aus, welche mit Aether ausgewaschen und sodann in warmem Methylalkohol gelöst wurde. Die Lösung wurde mit methylalkoholischer Barytlösung auf dem Wasserbade digerirt und in der oben beschriebenen Weise auf Cerebroside verarbeitet.

Durch vielfaches Umkrystallisiren wurden zwei Körper erhalten, welche bei weiterem Umkrystallisiren ihre Eigenschaften nicht mehr veränderten und welche daher als chemische Individuen betrachtet werden müssen. Diese Substanzen gehören zu den Cerebrosiden, sind aber mit keinem bisher bekannten Körper aus dieser Gruppe identisch. Wir schlagen für dieselben die Namen Pyosin und Pyogenin vor.

Das Pyosin ist der in Alkohol schwerer lösliche Körper. Derselbe stellt ein feines weisses Pulver vor, welches ohne Bräunung bei 100° getrocknet werden kann. Bei längerem Erhitzen auf 217° tritt eine leichte Gelbfärbung ein, bei 238° schmilzt die Substanz. Das Pyogenin beginnt unter leichter Gelbfärbung bei 201° zu sintern und schmilzt bei 221—222°. Der Schmelzpunkt änderte sich beim Umkrystallisiren nicht. Beide Körper gaben mit conc. Schwefelsäure Rothfärbung und spalteten beim Erwärmen mit verdünnter Schwefelsäure eine reducirende Substanz ab. Sie enthalten keinen Phosphor und lassen beim Verbrennen keine Asche zurück. Sie besitzen im Allgemeinen die Löslichkeitsverhältnisse des Cerebrins und Kerasins, doch sind sie noch leichter in Alkohol löslich als das letztere. Sie bilden ein weisses feinkörniges Pulver, welches ohne Gelbfärbung auf 100° erhitzt werden kann. Beide bilden Verbindungen mit Baryt, welche den früher erwähnten ähnlich sind.

Die Analysen ergaben folgende Resultate:

A. Analysen des Pyosins.

1. 0,1220 gr. Substanz gaben 0,2881 gr. CO_2 und 0,1164 gr. H_2O, d. i. 64,34 % C und 10,56 % H.
2. 0,0798 gr. Substanz gaben 0,2301 gr. CO_2 und 0,0910 gr. H_2O, d. i. 64,39 % C und 10,35 % H.
3. 0,1060 gr. Substanz gaben 0,2497 gr. CO_2 und 0,0991 gr. H_2O, d. i. 64,29 % C und 10,40 % H.
4. 0,2433 gr. Substanz gaben 5,8 cbcm. N bei 22,5° und 749 mm. Bar., d. i. 2,64 % N.

	1.	2.	3.	4.	Mittel:
C	64,34	64,39	64,29	—	64,34
H	10,56	10,35	10,40	—	10,43
N	—	—	—	2,64	2,64
O	—	—	—	—	22,59

B. Analysen des Pyogenins.

1. 0,0980 gr. Substanz gaben 0,2246 gr. CO_2 und 0,0928 gr. H_2O, d. i. 62,55 % C und 10,51 % H.
2. 0,0847 gr. Substanz gaben 0,1949 gr. CO_2 und 0,0792 gr. H_2O, d. i. 62,69 % C und 10,39 % H.
3. 0,3026 gr. Substanz gaben 6,5 cbcm. N bei 18° und 762 mm. Bar., d. i. 2,48 % N.

	1.	2.	3.	Mittel:
C	62,55	62,69	—	62,62
H	10,51	10,39	—	10,45
N	—	—	2,48	2,47
O	—	—	—	24,46

Die Analysen des Pyosins lassen sich mit den Formeln $C_{57}H_{110}N_2O_{15}$ oder $C_{58}H_{110}N_2O_{15}$ in Einklang bringen, das Pyogenin mit der Formel $C_{65}H_{128}N_2O_{19}$. Eine Begründung dieser Annahmen kann erst nach weiteren Untersuchungen des Materials, dessen Beschaffung von Zufälligkeiten abhängt, erfolgen.

Ausser diesen beiden Cerebrosiden kommen noch andere verwandte Körper im Eiter vor. Das von Hoppe-Seyler dargestellte Cerebrin des Eiters kann weder mit dem Pyosin, noch mit dem Pyogenin identisch gewesen sein, da es einen anderen Stickstoffgehalt zeigte. Auch wir erhielten bei der Untersuchung eines frisch entleerten pleuritischen Eiters, dessen Zellen wohlerhalten waren, eine andere stickstoffhaltige und

phosphorfreie Substanz, die durch ihre Eigenschaften und besonders durch die Abspaltung eines reducirenden Körpers ihre Zugehörigkeit zu den Cerebrosiden erwies, die aber bei 230—231° schmolz und 59,63% C und 9,63% H enthielt. Die analysirte Substanz war aschefrei. Bei der Umwandlung der Leukocyten in Eiterzellen erleiden die ursprünglichen chemischen Bestandtheile eine Aenderung. Wir wissen, dass das Nucleïn allmälig unter Abspaltung von Phosphorsäure zerfällt, wenn der Eiter stagnirt[1]). In gleicher Weise wird auch das Protagon zersetzt und wir haben wahrscheinlich das Pyogenin und vielleicht noch andere im Eiter vorkommende Cerebroside als Umwandlungsproducte der ursprünglichen aus dem Protagon hervorgehenden Cerebroside anzusehen.

Dass diese Cerebroside ursprünglich im Eiter mit Phosphor in Verbindung sind, geht aus den Analysen Hoppe-Seyler's (l. c.) hervor, welcher aus dem ursprünglichen aus Alkohol in Nadeln krystallisirten Körper 2,27 bis 3,44% P_2O_5, d. i. 0,99 bis 1,50% P fand. Dies entspricht dem Phosphorgehalt des Protagons.

In anderen Eiterarten findet man die Cerebroside schon in freiem Zustand, z. B. krystallisirte der zuletzt erwähnte, bei 230—231° schmelzende Körper schon ohne die Behandlung mit Aetzbaryt fast phosphorfrei in durchsichtigen, makroskopisch erkennbaren Knollen aus der alkoholischen Lösung heraus.

Wenn die Cerebroside auch durch die Fäulniss und verwandte Processe Umwandlungen erleiden mögen, so bleibt doch das ihnen eigenthümliche chemische Gefüge erhalten. Wir untersuchten die Adipocire, welche sich nach zehnjährigem Liegen einer Leiche in der Schädelhöhle gebildet hatte, und fanden in derselben ein Cerebrosid, welches bei der Zersetzung mit verdünnter Schwefelsäure einen reducirenden Körper ergab. Auch im Gewebe der Milz findet sich, wie Hoppe-Seyler erwies, ein Cerebrosid vor und wir dürfen nicht zweifeln, dass solche Substanzen noch in vielen thierischen Zellen entdeckt werden.

---

[1]) Kossel, diese Zeitschrift, Bd. VII, S. 7.

Da man vielleicht den Einwand erheben könnte, dass das Cerebrin der Milz aus den markhaltigen Nervenfasern dieses Organs hervorgeht und dass die Cerebroside des Eiters der Einschmelzung nervenhaltiger Theile ihren Ursprung verdanken, so haben wir zellige Gebilde untersucht, bei denen jede Verunreinigung mit nervösen Elementen ausgeschlossen war — die Spermatozoen. Die Analyse dieser an Karyoplasma reichen, an Cytoplasma armen Gebilde hat noch ein weiteres Interesse. Man kann sich nach ihrer Zusammensetzung eine Vorstellung darüber bilden, welche Substanzen dem Zellkern angehören. Hätten sich die Cerebroside in ihnen reichlicher vorgefunden, als in den kernärmeren Gewebszellen, so hätte man die Cerebroside als Bestandtheile des Zellkerns ansehen müssen.

Wir verarbeiteten die Hoden eines Störs, um eine möglichst grosse Menge der Spermatozoen zu gewinnen. Die Testikel des 24 Stunden vorher getödteten Thieres wurden zerkleinert, mit grossen Mengen Wasser geschüttelt und die milchige Flüssigkeit, welche die Spermatozoen aufgeschwemmt erhält, durch Tücher colirt. Die colirte Flüssigkeit wurde mit wenigen Tropfen Essigsäure versetzt, die Spermatozoen schrumpften und bildeten jetzt einen leicht filtrirbaren Niederschlag, bei dessen mikroskopischer Untersuchung keine anderweitigen Elemente wahrgenommen wurden. Die Untersuchung dieser Elemente wurde ebenso wie die des Eiters vorgenommen und lieferte eine äusserst geringe Menge eines Cerebrosids, welches sich völlig wie Cerebrin verhielt und unter Bildung einer reducirenden Substanz zerfiel. Für die Analyse reichte die geringe Menge nicht aus. Dieser Versuch beweist, dass die Cerebroside unabhängig vom Nervenmark vorkommen und dass sie höchst wahrscheinlich aus dem Cytoplasma, nicht aus dem Zellkern hervorgehen.

Zum Verhalten der Eiweisskörper gegen conc. Jodwasserstoffsäure.

Von

Dr. N. v. Lorenz.

(Mittheilung der k. k. landw. chemischen Versuchsstation in Wien.)
(Der Redaction zugegangen am 7. November 1892.)

Im Verlaufe einer von Herrn Dr. E. Meissl angeregten Untersuchung gewisser eiweisshaltiger Substanzen nach der Zeisel'schen[1]) Methode der Methoxylbestimmung ergab sich die Nothwendigkeit, reine Eiweisskörper darauf zu prüfen, ob dieselben Reste von der Form $O - C_n H_{2n+1}$ (speciell $O - CH_3$) enthalten, welche durch Jodwasserstoff abgespalten und in Alkyljodide übergeführt werden können, die bei der in Rede stehenden Methode durch Destillation im Kohlensäurestrome in alkoholische Silbernitratlösung gelangen und schliesslich als Jodsilber gewogen werden. Es wurden zunächst einige im Laboratorium vorhandene Eiweisssubstanzen älterer Darstellung im Benedikt'schen Apparat zur Ausführung der genannten Methode geprüft und zwar ein Serumnuclein und ein Eiweissnuclein. 1 gr. dieser Substanzen ergab über 0,1 gr. Jodsilber entsprechend etwa 1,5 % Methoxyl $O - CH_3$. Dieses Resultat gab Veranlassung, einige Eiweisskörper vegetabilischer Provenienz auf Methoxyl zu prüfen und zwar ein Conglutin und ein Soja-Casein. Diese beiden Körper lieferten jedoch nicht den zehnten Theil an Jodsilber, resp. Methoxyl, im Vergleich zu den vorhin genannten animalischen Eiweisskörpern. Es wurden nun das vorhin genannte Nuclein aus

[1]) Monatshefte für Chemie, 1885, S. 989.

Serum und das Nuclein aus Eiweiss durch Auflösen in sehr verdünnter Kalilauge und Fällen mit Säure gereinigt und neuerdings mit Jodwasserstoffsäure nach Zeisel-Benedikt destillirt. Die Ausbeute an Jodsilber und somit an Methoxyl ergab sich bei diesen gereinigten Eiweisskörpern nun als nahezu gleich Null. Ebenso verhielten sich frisch dargestellte reine Nucleine, verschiedene Caseine aus Kuhmilch, Casein aus Ziegenmilch, Casein aus Quargelkäse, reines Eieralbumin, reines Conglutin und Casein aus der Sojabohne.

Es kann somit angenommen werden, dass diese Eiweisskörper in ihrem Moleküle keine Gruppen der Zusammensetzung $O - CH_3$, $O - C_2H_5$ enthalten. Dagegen ist nicht ausgeschlossen, dass höhere Oxyalkylreste der Form C_nH_{2n+1} im Moleküle dieser Eiweisskörper vorkommen, da deren Alkyljodide nach der Construction des Apparates zur Methoxylbestimmung nicht mehr (ohne Jodwasserstoff mitzuführen) in die vorgeschlagene alkoholische Silbernitratlösung gelangen können.

Wien, im November 1892.

Ueber das Verhalten einiger schwefelhaltiger Verbindungen im Stoffwechsel.

Von

William J. Smith.

(Der Redaction zugegangen am 11. November 1892.)

In früheren Mittheilungen wurde gezeigt[1]), dass das Sulfonal durch den Stoffwechsel zum weitaus grössten Theil in eine leicht lösliche schwefelhaltige organische Verbindung, wahrscheinlich Aethylsulfosäure, umgewandelt wird, während eine Bildung von Schwefelsäure aus dem dem Organismus zugeführten Sulfonal überhaupt nicht, jedenfalls nicht in nachweisbarer Menge, stattfindet[2]).

Da über das Verhalten anderer schwefelhaltiger Stoffe im thierischen Organismus bis jetzt nur wenige Erfahrungen vorliegen und diese Frage im Hinblick auf die verschiedenartigen schwefelhaltigen Verbindungen des normalen Harnes, deren Natur bis jetzt noch wenig aufgeklärt ist, ein gewisses Interesse beansprucht, habe ich einige Versuche mit verschiedenen schwefelhaltigen Körpern in dieser Richtung angestellt, über welche im Folgenden berichtet wird.

Zu allen Versuchen diente ein Hund, welcher Monate lang vorher und während der Versuchsdauer täglich 1 Pfund

---

1) W. J. Smith, therapeut. Monatshefte 1888, November.

2) Jolles (Pharmac. Post 1891, No. 21) beobachtete bei Sulfonalintoxication eine vermehrte Ausscheidung der Schwefelsäure beim Menschen. Da die hierbei auftretenden weitgehenden Störungen des Stoffwechsels die Ausscheidung der Schwefelsäure an sich erheblich beeinflussen können, bleibt es wohl dahingestellt, ob in dem von Jolles untersuchten Falle eine vermehrte Schwefelsäureausscheidung durch den Schwefelgehalt des Sulfonals bedingt worden ist. Meine an Thieren angestellten Beobachtungen sprechen durchaus gegen diese Annahme.

Hundebisquit und 1 Liter Wasser erhielt. Das Gewicht des Hundes betrug rund 25 Pfund und blieb während der Versuchsdauer nahezu constant.

Bei den einzelnen Versuchen wurde immer die Ausscheidung von 3 Normaltagen mit dem nach Eingabe eines bestimmten Stoffes gesammelten Harn von gleichfalls 3 Tagen verglichen. Der Schwefelgehalt der mit oder nach dem Futter eingegebenen Substanzen war immer ein so grosser, dass die geringen täglichen Schwankungen der Schwefelausscheidung dagegen nicht in Betracht kommen können.

1. Aethylmercaptol des Acetons

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} > C < \begin{matrix} SC_2H_5 \\ SC_2H_5 \end{matrix}$$

Das Aethylmercaptol des Acetons dient bekanntlich zur Herstellung des Sulfonals, in welches es durch Oxydation übergeführt wird. Da das Mercaptol sehr leicht oxydirbar ist, war anzunehmen, dass es im Organismus auch diese Umwandlung erfahre, und wie Sulfonal auf denselben einwirken werde. Der Versuch zeigte indessen, dass zwar ein kleiner Theil des Mercaptols zu Sulfonal oxydirt wird, dagegen die Wirkung des Mercaptols von der des Sulfonals gänzlich verschieden ist. Während 2—3 gr. Sulfonal auf mittelgrosse Hunde schon eine starke Wirkung hervorrufen, ist das Mercaptol in mehr als doppelt so grosser Menge ganz wirkungslos. Sicher wirkt es nicht schlafmachend; auch der bei Hunden nach Sulfonaleingabe immer eintretende rauschartige Zustand wird durch das Mercaptol nicht hervorgerufen.

Es liegt also hier die Thatsache vor, dass ein leicht oxydirbarer Körper, das Mercaptol, ganz wirkungslos ist, während sein Oxydationsprodukt, das Sulfonal, gerade bei Hunden eine äusserst charakteristische Reihe von Erscheinungen bedingt, und in beiden Fällen können die Endprodukte der Umwandlung beider Verbindungen durch den Stoffwechsel nicht von verschiedener Art sein. Daraus geht hervor, dass die Wirkung des Sulfonals selbst, was auch Kast besonders

betont hat, wesentlich durch die schwere Angreifbarkeit seines Moleculs bedingt wird.

Das Mercaptol wird wegen seines unangenehmen Geruches von Hunden leicht wieder erbrochen. In den Fällen, wo Gaben von 6 gr. von den Thieren behalten wurden, trat keine andere Wirkung ein, als ein bald vorübergehender Speichelfluss. Die Thiere rochen längere Zeit nach dem Präparat; ihre Fresslust und ihr Wohlbefinden waren im Uebrigen nicht gestört. Durch 4 verschiedene Versuche wurde festgestellt, dass das Mercaptol in Gaben von 6 gr. bei dem 25 Pfund schweren Hunde weder eine erregende noch schlafmachende Wirkung besitzt.

Ueber die Ausscheidung der Schwefelsäure vor und während des Versuches gibt die folgende Tabelle Aufschluss:

Datum. 1890.	Harnmenge von 24 Stunden in cbcm.	Spec. Gew.	$BaSO_4$ aus 50 cbcm. Harn. gr.	Schwefelausscheidung in 24 Stunden in Form[1]) von Schwefelsäure.	
Febr. 5.	213	1,055	0,3357	0,1966	Mittel der Normaltage 0,189
» 6.	193	1,054	0,3438	0,1824	
» 7.	247,5	1,050	0,3206	0,2182	
	Summa 653,5			Summa 0,5972	

Am 7. Abends erhielt das Thier 6 gr. Mercaptol in Gelatinekapseln. Der Harn der folgenden drei Tage ergab folgende Werthe der Schwefelsäureabscheidung:

Datum. 1890.	Harnmenge von 24 Stunden in cbcm.	Spec. Gew.	$BaSO_4$ aus 50 cbcm. Harn. gr.	Schwefelausscheidung in 24 Stunden in Form von Schwefelsäure.	
Febr. 8.	203	1,055	0,3675	0,2051	Mittel 0,1894
» 9.	159	1,052	0,3381	0,1478	
» 10.	231	1,052	0,3393	0,2155	
	Summa 503			Summa 0,5684	

[1]) Da die Aetherschwefelsäuren des Harns immer nur eine Form der Schwefelsäureausscheidung darstellen, sind sie bei den folgenden Versuchen zugleich mit der Schwefelsäure bestimmt worden.

Eine Vergleichung der beiden Beobachtungsreihen zeigt, dass das Mercaptol jedenfalls nicht bis zur Bildung von Schwefelsäure oxydirt worden ist. Die qualitative Untersuchung des Harns ergab, dass derselbe eine organische schwefelhaltige Verbindung enthielt, welche in Wasser sehr leicht löslich und sehr beständig ist. Man wird mit der Annahme wohl kaum fehlgehen, dass diese Substanz, wie nach Eingabe von Sulfonal, nichts anderes als Aethylsulfosäure ist. Ausser dieser Substanz enthielt aber der Harn eine kleine Menge von Sulfonal, welches durch Oxydation des Mercaptols entstanden ist. Der am Tage nach der Eingabe des Mercaptols entleerte Harn wurde eingedampft und mit Aether wiederholt ausgeschüttelt. Beim Verdunsten des Aethers blieb ein krystallinisch erstarrender Rückstand, welcher beim Umkrystallisiren aus heissem Wasser 0,0126 gr. Sulfonal lieferte. Der Schmelzpunkt desselben wurde bei 124° beobachtet, während das reine Sulfonal bei 125° schmilzt.

2. α-Trithioaldehyd

$C_6H_{12}S_3$.

Diese in Wasser so gut wie unlösliche Substanz wird im Darm zwar unvollständig, aber doch in merklicher Menge resorbirt. Der am Tage nach der Eingabe von 6 gr. α-Trithioaldehyd entleerte Harn zeigte ein eigenthümliches Verhalten; in demselben entstand bald beim Stehen ein voluminöser gallertartiger Niederschlag, welcher aus äusserst feinen verfilzten Krystallnadeln bestand. Beim Umkrystallisiren aus viel heissem Wasser wurde dieser Körper in feinen farblosen Nadeln erhalten, welche in kaltem Wasser gar nicht, in Alkohol und Aether sehr schwer, leicht in Natronlauge sich lösten. Aus der alkalischen Lösung wurde durch Säuren die ursprüngliche Substanz wieder abgeschieden. Die Krystalle derselben bleiben beim Erhitzen bis auf 230° unverändert (der α-Trithioaldehyd schmilzt bei 102°), bei höherer Temperatur werden sie unter Bräunung zersetzt, wobei der Geruch von Schwefeldioxyd bemerkt wird. Bei einer Schwefelbestimmung nach Carius ergaben 0,1055 gr. der Substanz 0,2978 gr. $BaSO_4$ entsprechend 38,8 % Schwefel. Zu weiteren Versuchen reichte

die Substanz, welche in nur geringer Menge im Harn auftrat, nicht aus. Bei einem Versuche (nach 6 gr. Trithioaldehyd) wurde nur wenig mehr als 0,1 gr. des Umwandlungsproduktes aus dem Harn gewonnen. Aus seinem Verhalten geht hervor, dass dieser Körper ein saures Sulfon ist, welches durch Oxydation des Trithioaldehyds gebildet wurde. Der Schwefelgehalt und die Eigenschaften desselben stimmen am besten für das Disulfonsulfid, welchem die Formel $C_6H_{12}S_3O_4$ und ein Schwefelgehalt von 39,3 % zukommen.

Die Bestimmungen der Schwefelsäure im Harn vor und während des Versuches ergaben, dass nur ein kleiner Theil des Trithioaldehyds eine völlige Oxydation bis zur Bildung von Schwefelsäure erfahren haben kann, da nach Eingabe der Substanz, welche am 25. Juli Abends erfolgte, eine geringe Steigerung der Schwefelausscheidung eintrat.

Datum. 1890.	Harnmenge von 24 Stunden in cbcm.	Spec. Gew.	$BaSO_4$ aus 50 cbcm. Harn. gr.	Schwefelausscheidung in Form von Schwefelsäure in 24 Stunden.	Im Mittel.
Juli 23.	403	1,023	0,1584	0,1755	0,1815
» 24.	153	1,027	0,1990	0,0837	
» 25.	629	1,021	0,1467	0,2537	
	42	1,040	0,1651	0,0317	
» 26.	399	1,030	0,2129	0,2336	0,2258
» 27.	390	1,023	0,1581	0,1695	
» 28.	455	1,030	0,2192	0,2743	

Harnmenge in cbcm.	Schwefelausscheidung in 3 Tagen in Form von Schwefelsäure.
der 3 Normaltage 1227	0,5446
der 3 Versuchstage 1244	0,6774

3. Thioglycolsäure

$CH_2(SH)COOH$.

5 gr. Thioglycolsäure wurden mit Ammoniak fast neutralisirt und dem Hunde in Kapseln (am 11. Dec.) eingegeben. Da Erbrechen erfolgte, wodurch ein Theil der Sub-

stanz verloren ging, wurden an den beiden folgenden Tagen wieder 2 gr. Thioglycolsäure als Ammonsalz gegeben, welche nicht wieder erbrochen wurden. Bei diesem Versuch — welcher wegen der durch das Erbrechen bedingten Störung nicht ganz quantitativ durchgeführt ist — zeigte sich eine erhebliche Zunahme der Schwefelsäureausscheidung. Von einer der Thioglycolsäure in ihrer Constitution verwandten Substanz, dem Cystin bez. Cysteïn, hat Goldmann vor längerer Zeit gezeigt, dass sie gleichfalls durch den Stoffwechsel zum grossen Theile bis zur Bildung von Schwelsäure oxydirt wird.

Eine andere Wirkung, als dass ihre Salze beim Hunde leicht Brechen erregen, wurde von der Thioglycolsäure nicht beobachtet.

Datum. 1890.	Harnmenge von 24 Stunden in cbcm.	Spec. Gew.	$BaSO_4$ aus 50 cbcm. Harn. gr.	Schwefelausscheidung in Form von Schwefelsäure in 24 Stunden.	Mittel.
Dec. 9.	609	1,023	0,1258	0,2107	0,1687
» 10.	354	1,030	0,1516	0,1476	
» 11. (5 gr. Thioglycolsäure, welche z. Th. erbrochen wurden.)	410	1,022	0,1311	0,1478	
	Summa 1373			Summa 0,5061	
Dec. 12. (2 gr. Thioglycolsäure.)	357	1,022	0,2764	0,2713	0,3129
Dec. 13. (2 gr. Thioglycolsäure.)	546	1,029	0,2576	0,3868	
Dec. 14.	310	1,033	0,3294	0,2808	
	Summa 1213			Summa 0,9389	

Aus dem Mitgetheilten ist ersichtlich, dass gewisse Sulfide im Organismus nicht einer völligen Oxydation unterliegen, während Körper, welche die SH-Gruppe enthalten, durch den Stoffwechsel eine Oxydation bis zur Bildung von Schwefelsäure erfahren.

4. Aethylidendiäthylsulfon

$CH_3CH(SO_2C_2H_5)_2$.

Dass Sulfone, welche in ihrer Constitution dem Sulfonal nahe stehen, ein ähnliches Verhalten, wie diese im Organismus zeigen würden, war von vornherein wahrscheinlich. Ich habe desshalb nur mit einem solchen Körper, dem Aethylidendiäthylsulfon, einen Stoffwechselversuch angestellt. Der Versuch bestätigte die gemachte Voraussetzung, wie die folgende Zusammenstellung zeigt.

Datum. 1890.	Harnmenge von 24 Stunden in cbcm.	Spec. Gew.	$BaSO_4$ aus 50 cbcm. Harn. gr.	Schwefelausscheidung in Form von Schwefelsäure in 24 Stunden.	Mittel der Normaltage.
Juni 19.	427	1,027	0,1813	0,2129	
» 20.	657	1,019	0,1209	0,2184	0,1798
» 21.	470	1,015	0,0838	0,1083	
	Summa 1554			Summa 0,5396	

Am 21. Juni Abends erhielt das Thier 6 gr. Aethylidendiäthylsulfon in gröblich gepulvertem Zustande[1]). An den folgenden 3 Tagen wurden die nachstehenden Werthe für die Schwefelsäureausscheidung ermittelt.

Datum. 1890.	Harnmenge von 24 Stunden in cbcm.	Spec. Gew.	$BaSO_4$ aus 50 cbcm. Harn. gr.	Schwefelausscheidung in Form von Schwefelsäure in 24 Stunden.	Mittel.
Juni 22.	602	1,020	0,1369	0,2266	
» 23.	448	1,023	0,1532	0,1887	0,1850
» 24.	325	1,025	0,1564	0,1398	
	Summa 1375			Summa 0,5551	

Aus dem Harn vom 22. bis 24. Juni wurden durch Ausschütteln mit Aether und Umkrystallisiren aus heissem Wasser

---

[1]) Die Wirkung der Substanz fiel in die Nachtzeit; sie wurde nicht weiter beobachtet, da über dieselbe Erfahrungen von Kast (Berl. Klin. Wochenschr. 1888, No. 16) und Baumann und Kast schon vorliegen (diese Zeitschr., Bd. 14, S. 56).

0,1211 gr. unverändertes Aethylidendiäthylsulfon, welches bei 74° schmolz (der Schmelzpunkt der ganz reinen Substanz liegt bei 75°), wieder erhalten.

5. Aethylendiäthylsulfon

$$\begin{array}{l} CH_2(SO_2C_2H_5) \\ | \\ CH_2(SO_2C_2H_5) \end{array}$$

Dieses Sulfon[1]) wird im Gegensatz zum Sulfonal und dem ihm isomeren Aethylidendiäthylsulfon durch Alkalien theilweise verseift, indem Aethylsulfinsäure abgespalten wird[2]). Trotzdem fand im Organismus keine Oxydation derselben bis zur Bildung von Schwefelsäure statt. Ein Theil dieses im Uebrigen unwirksamen Sulfons wird, wie Baumann und Kast[3]) bemerkt haben, unverändert wieder ausgeschieden. Die Schwefelsäureausscheidung bei dieser Versuchsreihe, in welcher am 14. Juni 6 gr. Aethylendiäthylsulfon eingegeben worden sind, ist aus folgender Tabelle ersichtlich.

Datum. 1890.	Harnmenge von 24 Stunden in cbcm.	Spec. Gew.	Ba SO₄ aus 50 cbcm. Harn. gr.	Schwefelausscheidung in Form von Schwefelsäure in 24 Stunden.
Juni 12.	605	1,022	0,1460	0,2429
» 13.	642	1,020	0,1251	0,2208
» 14.	503	1,021	0,1338	0,1851
» 15.	498	1,020	0,1202	0,1646
» 16.	955	1,015	0,1026	0,2694
» 17.	372,5	1,021	0,1012	0,1344

Harnmenge von 3 Tagen in cbcm.	Schwefelausscheidung in 3 Tagen in Form von Schwefelsäure.	Durchschnittliche tägliche Schwefelausscheidung in Form von Schwefelsäure.
Vor dem Versuch . . 1750	0,6488	0,2162
Während des Versuches 1825,5	0,5684	0,1894

[1]) Beckmann, Journ. pr. Chem. [2] 17, S. 469.
[2]) Vergl. Otto, Ebend. 30, S. 171 und 321.
[3]) Diese Zeitschr., S. 14, S, 54.

Aus den vorstehenden und den früher[1]) mitgetheilten Versuchen geht unzweideutig hervor, dass die Schwefelsäure, welche unter normalen Verhältnissen im Harn erscheint, ihre Entstehung nicht durch Oxydation schwefelhaltiger Atomcomplexe des Eiweismoleküls, welche Sulfongruppen, Sulfosäurereste, oder einfache Sulfidbindungen enthalten, bedingt wird, sondern nur durch Oxydation von Bindungen des Schwefels, wie sie in der Thioglycolsäure und dem Cystin oder Cysteïn (Goldmann l. c.) enthalten sind, zu Stande kommen kann. Es wird ferner durch die bis jetzt vorliegenden Erfahrungen der Schluss nahe gelegt, dass derjenige Theil des nicht oxydirten Schwefels im Harn, welcher, wie Lépine gezeigt hat, der Einwirkung von Oxydationsmitteln am schwersten zugänglich ist, aus Sulfonen oder Sulfosäuren bestehe. Da erstere im Harn leicht nachweisbar sind, ist die Wahrscheinlichkeit am grössten, dass es sich dabei um Sulfosäuren handle.

Freiburg i. B., Laboratorium von Prof. Baumann.

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. 17, S. 4.

Beiträge zur Kenntniss der Nucleinbasen.

Von

Carl Wulff.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)

(Der Redaction zugegangen am 14. November 1892.)

Die neueren eingehenden Untersuchungen über das Adenin und das Hypoxanthin haben zur Folge gehabt, dass man von diesen beiden Basen zur Zeit in manchen Punkten eine bessere Kenntniss besitzt, als von den weit länger bekannten Schwesterbasen, dem Guanin und dem Xanthin. Einerseits sind eine Menge chemischer Verbindungen vom Adenin und Hypoxanthin dargestellt worden, wie solche von den beiden Schwesterbasen bisher nicht bekannt waren; andererseits haben die Untersuchungen von Bruhns[1]) sich auch speciell mit der Ausarbeitung einer Methode zur quantitativen Bestimmung der beiden Basen befasst, und ist es ihm gelungen, einen Weg ausfindig zu machen, der eine scharfe quantitative Trennung beider Basen ermöglicht. Für das Guanin und das Xanthin existirt eine derartige Bestimmungsmethode nicht. Die Auffindung einer solchen muss natürlich für die physiologische Chemie von grossem Werthe sein, zumal wenn sie eine derartige ist, dass sie nicht allein das Guanin und Xanthin berücksichtigt, sondern auch das Adenin und Hypoxanthin, also eine quantitative Trennung und Bestimmung der vier Nucleinbasen möglich macht.

Meine im Folgenden beschriebenen Untersuchungen liefern einerseits einen Beitrag zur Kenntniss des Guanins, andererseits einiges Material für die quantitative Bestimmung und Trennung der Nucleinbasen.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 538.

Darstellung des Guanins.

Als Ausgangsmaterial für die Darstellung des Guanins diente Peru-Guano[1]).

Das Verfahren, nach dem Strecker[2]) das Guanin aus dem Guano gewann, war im Wesentlichen folgendes: Nachdem der Guano wiederholt mit Kalkmilch ausgekocht ist, wird dem Rückstand durch Auskochen mit Soda das Guanin und die Harnsäure entzogen. Die filtrirte alkalische Lösung wird mit Natriumacetat und Salzsäure versetzt, wodurch Harnsäure und Guanin ausfallen. Das Gemenge beider wird nun mit ziemlich concentrirter, heisser Salzsäure behandelt; das Guanin geht in Lösung, während Harnsäure bis auf geringe Mengen ungelöst bleibt. Aus dem auskrystallisirten salzsauren Guanin wird die freie Base durch Ammoniak abgeschieden. Das so erhaltene Guanin wird nun zur Zerstörung der noch vorhandenen geringen Spuren von Harnsäure in starker heisser Salpetersäure gelöst, und schliesslich durch Behandeln des auskrystallisirten Nitrates mit Ammoniak reines Guanin erhalten.

Neubauer und Kerner[3]) verfuhren, um ein rohes salzsaures Guanin zu reinigen, in der Weise, dass sie die Lösung desselben mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung fällten und das gebildete Guanin-Quecksilbersalz wieder durch Schwefelwasserstoff zerlegten.

Das Verfahren, welches ich bei der Darstellung des Guanins in Anwendung brachte, war ein wesentlich anderes: Peru-Guano wird mit verdünnter Schwefelsäure, welche im Liter ca. 50 Volumtheile H_2SO_4 enthält, 4—6 Stunden gekocht und nach dem Erkalten alsbald filtrirt. Die Filtration verläuft leicht und schnell. Die gelblich gefärbte Flüssigkeit wird nun mit Natronlauge alkalisch gemacht, von dem entstehenden

---

[1]) Seitens der Anglo-Continentale, vormals Ohlendorff'schen Guanowerke, zu Emmerich wurde mir eine Quantität Peru-Guanos bereitwilligst zur Verfügung gestellt, wofür auch an dieser Stelle der genannten Firma mein Dank ausgesprochen werde.

[2]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 118, S. 152.

[3]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 101, S. 318.

voluminösen Niederschlage abfiltrirt, und das so erhaltene alkalische Filtrat, das u. A. Guanin neben geringen Mengen Harnsäure enthält, mit soviel ammoniakalischer Silberlösung versetzt, dass das Guanin und die Harnsäure als Silberverbindungen gefällt werden. Nach Verlauf von 12 Stunden hat sich der voluminöse Niederschlag zu Boden gesetzt. Man zieht den grösseren Theil der überstehenden klaren Flüssigkeit mittelst eines Hebers ab und bringt den Rest auf ein Faltenfilter von möglichst starkem Papier. Der auf dem Filter gesammelte Niederschlag wird, nachdem er erst mit kaltem, dann mit heissem Wasser ausgewaschen ist, in noch feuchtem Zustande vom Filter heruntergenommen und allmälig unter Umrühren in heisse verdünnte Salzsäure eingetragen, wodurch er alsbald zersetzt wird. Die vom abgeschiedenen Chlorsilber[1]) abfiltrirte salzsaure Lösung wird, nachdem sie durch Digeriren mit Thierkohle auf dem Wasserbade möglichst entfärbt ist, mit Ammoniak übersättigt, wodurch das Guanin zur Ausscheidung gelangt. Das so erhaltene Guanin wird zur Zerstörung von noch beigemengten Spuren Harnsäure unter gleichzeitigem Zusatz einer kleinen Menge Harnstoff in siedend heisser Salpetersäure von einem Gehalte von ca. 20% HNO_3 gelöst und zur Krystallisation bei Seite gestellt. Der Zusatz von Carbamid hat den Zweck, die geringen Mengen der sich bildenden salpetrigen Säure in ihrer Wirkung auf das Guanin unschädlich zu machen. Das auskrystallisirte salpetersaure Guanin wird in verdünnter Natronlauge gelöst, und hieraus durch Chlorammonium das Guanin abgeschieden. Durch letzteren Process werden etwa vorhandene geringe Spuren von Xanthin, das aus verdünnter alkalischer Lösung durch Ammoniak und Ammoniaksalze nicht gefällt wird, getrennt.

Das auf diese Weise gewonnene Guanin bildet ein amorphes Pulver von blendend weisser Farbe.

---

[1]) Das Chlorsilber wird, um es für weitere Fällungen brauchbar zu machen, zweckmässig durch Zink und Salzsäure reducirt. Soweit es sich in Ammoniak löst, kann auch die ammoniakalische Chlorsilberlösung direct zur Fällung benutzt werden.

Die Analyse ergab folgende Zahlen:

0,2347 gr., bei 105° getrocknet, gaben 0,3411 gr. CO_2 und 0,072 gr. H_2O.
0,0998 gr., bei 105° getrocknet, gaben 40 cbcm. N. bei 760 B und 17,3 T.

	Berechnet für $C_5H_5N_5O$:	Gefunden:
C	39,73	39,64 %
H	3,31	3,41 %
N	46,36	46,43 %

Da, wie wohl keinem Zweifel unterliegt, das Guanin im Guano z. Th. an Kalk gebunden, z. Th. in nucleinartigen Körpern sich vorfindet, die Spaltung der letzteren aber und somit das Freiwerden des Guanins beim Kochen mit verdünnten Säuren nur langsam erfolgt, so genügt in der Regel ein einmaliges Auskochen des Guanos nicht, um alles darin enthaltene Guanin in Lösung zu bringen. Man wiederholt daher das Auskochen, solange die Ausbeute an Guanin noch lohnend ist.

Spaltung des Guanins durch Salzsäure.

Durch die Untersuchungen von E. Schmidt und Pressler[1]) wurde festgestellt, dass das Xanthin und seine beiden Methylderivate, das Theobromin und das Coffein, bei hoher Temperatur und unter Druck durch conc. Salzsäure im Sinne nachfolgender Gleichungen gespalten werden:

$$C_5H_4N_4O_2 + 6\,H_2O = 3\,NH_3 + C_2H_5NO_2 + 2\,CO_2 + CH_2O_2.$$
Xanthin.

$$C_7H_8N_4O_2 + 6\,H_2O = 2\,NH_3 + NH_2CH_3 + CH_3C_2H_4NO_2 + 2\,CO_2 + CH_2O_2.$$
Theobromin.

$$C_8H_{10}N_4O_2 + 6\,H_2O = NH_3 + 2\,NH_2CH_3 + CH_3C_2H_4NO_2 + 2\,CO_2 + CH_2O_2.$$
Coffein.

Die Spaltung verläuft also bei allen drei Basen analog. Als Zersetzungsproducte beim Xanthin treten auf: Kohlensäure, Ameisensäure, Ammoniak und Glykokoll. Bei der Spaltung des Theobromin-Moleküls erscheint von den beiden Methylgruppen die eine an Glykokoll, die andere an Ammoniak

[1]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 217, S. 270.

gelagert, sodass hier an Stelle von Glykokoll und einem Molekül Ammoniak Sarkosin und Methylamin auftreten. Beim Coffein sind die Spaltungsproducte dieselben; nur werden hier infolge der noch vorhandenen dritten Methylgruppe zwei Moleküle Methylamin abgespalten.

Es schien von Wichtigkeit und Interesse, auch das Guanin in gleicher Weise der Einwirkung von conc. Salzsäure auszusetzen. Auf Grund der durch salpetrige Säure leicht zu bewerkstelligenden Ueberführung des Guanins in Xanthin hatte man, zugleich im Hinblick darauf, dass beide Basen sich durch ihre allgemeinen Eigenschaften als nahe Verwandte erwiesen hatten, dem Guanin eine Constitution zugeschrieben, die sich von der des Xanthins nur dadurch unterscheidet, dass eine O-Gruppe durch NH ersetzt ist. Die Annahme einer analogen Gruppirung der Atome in den Molekülen beider Basen setzt ein gleiches Verhalten beider Körper voraus. Es musste daher Wunder nehmen, dass sich in einigen Beziehungen Unterschiede herausstellten.

Strecker[1]) fand bei der Oxydation des Guanins durch chlorsaures Kali und Salzsäure als wesentliche Zersetzungsproducte Guanidin, Parabansäure und Kohlensäure. E. Fischer[2]) unterwarf später das Xanthin der Oxydation durch Chlor und erhielt als Spaltungsproducte Alloxan und Harnstoff, während auch ihm das Guanin statt des Alloxans Parabansäure und Kohlensäure lieferte[3]). Ein Hinweis darauf, dass das Alloxan als intermediäres Oxydationsproduct auftritt, wenn Harnsäure mit Salpetersäure eingedampft wird, genügt, um den hier auftretenden Unterschied als einen nicht wesentlichen zu kennzeichnen; gleichwohl ist er bemerkenswerth.

Ein zweiter zu erwähnender Unterschied ist der folgende: Strecker[4]) erhielt durch Einwirkung von Jodmethyl auf Xanthinsilber ein Dimethylxanthin, ein Isomeres des Theo-

---

[1]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 118, S. 155.
[2]) Dieselben Annal., Bd. 215, S. 257.
[3]) Ber. d. deutsch. chem. Ges., 1882, S. 455.
[4]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 118, S. 172.

bromins. E. Fischer[1]) konnte ohne grosse Schwierigkeit das Theobromin aus dem Xanthin erhalten, indem er Jodmethyl auf eine Bleiverbindung des Xanthins einwirken liess. Es gelang also leicht, an das Xanthinmolekül Alkylgruppen anzufügen.

Im Gegensatz hierzu verlief ein Versuch von E. Fischer und Reese[2]), in gleicher Weise Alkylderivate vom Guanin darzustellen, völlig resultatlos. Die Reaction verlief hier in so komplexem Sinne, dass die entstandenen Producte ununtersucht bleiben mussten.

Es resultirt hieraus, dass man a priori nicht berechtigt ist, vom Xanthin auf das Guanin zu schliessen. Der Versuch, das Guanin durch Salzsäure zu zerlegen, musste darum von Interesse sein. Konnte nachgewiesen werden, dass das Guanin in analoger Weise wie das Xanthin durch Salzsäure gespalten werde, so war ein weiterer Beweis für die Constitutionsformel des Guanins erbracht.

Die Spaltung des Guanins durch Salzsäure bewirkte ich in der Weise, dass ich Guanin mit der zwanzigfachen Menge Salzsäure (spez. Gew. 1,19) in ein Rohr einschloss und 12—15 Stunden auf 180—200° erhitzte. Nach Verlauf dieser Zeit war die Spaltung beendet; das Reactionsgemisch im Rohr bildete eine fast farblose Flüssigkeit, aus der beim Erkalten Krystalle in grosser Menge sich ausschieden. Z. Th. konnten dieselben als Chlorammonium-Krystalle erkannt werden. Eine Probe derselben, in Wasser gelöst und mit Platinchlorid versetzt, lieferte die bekannten oktaedrischen Krystalle von Ammoniumplatinchlorid. Die weitere Untersuchung der Zersetzungsproducte war zunächst auf die gebildeten gasförmigen Producte gerichtet, die beim Oeffnen des Rohres demselben unter starkem Druck entströmt und z. Th. über Wasser, z. Th. über Quecksilber aufgefangen waren.

Das Gasgemisch brannte mit bläulicher Flamme. Mittelst Barytwasser wurde in demselben die Gegenwart von Kohlen-

---

[1]) Annal. d. Chem. u. Pharm, Bd. 215, S. 311.

[2]) Dieselben Annal., Bd. 221, S. 341.

säure nachgewiesen. Ein anderer Theil des Gasgemisches wurde zur Prüfung auf Kohlenoxyd, dem Zersetzungsproducte etwa gebildeter Ameisensäure, verwendet. Der Nachweis des Kohlenoxyds geschah auf doppelte Weise: Ein Theil des Gasgemisches wurde, nachdem er einige Zeit zur Absorption der Salzsäure über Wasser aufbewahrt war, mit Palladiumchlorür geschüttelt; es erfolgte eine Abscheidung von metallischem Palladium. Ein anderer Theil wurde mit verdünntem Blut geschüttelt, und die Blutlösung, in geeigneter Verdünnung mit einigen Tropfen Schwefelammonium durchschüttelt, im Spectralapparat betrachtet. Es erschien nicht das Spectrum des reducirten Hämoglobins, vielmehr jene für das Kohlenoxydhämoglobin charakteristischen Streifen. Das Auftreten von Kohlenoxyd ist als eine Folge einer sekundär verlaufenden Reaction zu betrachten, indem die abgespaltene Ameisensäure durch die vereinte Einwirkung von starker Salzsäure, hoher Temperatur und starkem Druck in Kohlenoxyd und Wasser zerfällt.

Gleichwohl konnte eine nicht unbeträchtliche Menge von Ameisensäure unter den Reactionsproducten nachgewiesen werden, und zwar in folgender Weise: Die Zersetzungsproducte von etwa 3 gr. Guanin wurden in ca. 300 gr. Wasser gelöst, und hiervon 100 gr. abdestillirt. Das Destillat, das reichliche Mengen Salzsäure enthielt, wurde mit NaOH genau neutralisirt und auf dem Wasserbade eingeengt. In dieser koncentrirten Lösung wurde die Gegenwart von Ameisensäure auf folgende Weise dargethan: Ein Theil, mit Aethylalkohol und einigen Tropfen Schwefelsäure gelinde erwärmt, gab den an Arrak erinnernden Geruch von ameisensaurem Aethylester. Zu einem anderen Theil wurde ein Tropfen Eisenchloridlösung gegeben: es trat braunrothe Färbung ein; beim Erwärmen bildete sich ein rostbrauner flockiger Niederschlag. Ein dritter Theil wurde mit Quecksilberchloridlösung auf dem Wasserbade allmälig erwärmt: es fiel Quecksilberchlorür nieder.

Es erübrigte, nachdem, wie oben erwähnt, die Krystalle, welche sich aus dem Reactionsgemisch abgeschieden hatten,

als Salmiakkrystalle charakterisirt waren, die Bildung von Glykokoll nachzuweisen. Das durch Zersetzung von etwa 3 gr. Guanin erhaltene, in Wasser gelöste Reactionsproduct, von dem ein Theil zum Nachweis der Ameisensäure abdestillirt war, gab die für Glykokoll charakteristische Blaufärbung durch Kupferchlorid.

Um das Glykokoll zu isoliren, verfuhr ich, wie folgt: Die erwähnte Lösung der Reactionsproducte wurde, nachdem durch Zugabe von 6 gr. Schwefelsäure der grösste Theil der darin gelösten salzsauren Salze in Sulfate übergeführt war, auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit heissem Wasser aufgenommen, die heisse Lösung, um sie chlorfrei zu machen, mit schwefelsaurem Silber gefällt, vom Chlorsilber abfiltrirt, und das überschüssige Silber durch Schwefelwasserstoff entfernt. Die filtrirte Flüssigkeit wurde nun zum Sieden erhitzt und, nachdem der Geruch nach Schwefelwasserstoff verschwunden war, mit Baryumcarbonat gefällt und vom Baryumsulfat und überschüssigen Carbonat abfiltrirt. Beim Eindampfen der auf diese Weise erhaltenen Flüssigkeit restirte ein allmälig krystallinisch erstarrender Sirup. Derselbe wurde mit einer kleinen Menge Wasser aufgenommen, mit frisch gefälltem, rein ausgewaschenem Kupferoxydhydrat erwärmt und filtrirt. Aus dem Filtrate schieden sich nach Zusatz von Alkohol blaue nadelförmige Krystalle ab, welche, nochmals umkrystallisirt, analysirt wurden. Die Analyse ergab, dass die Verbindung aus reinem Glykokollkupfer bestand.

Das Kupfersalz verlor beim Trocknen bei 100° nur ganz langsam, schneller bei 130° das Krystallwasser. Mit Verlust desselben wurde die Farbe tiefdunkelblau.

0,3938 gr., über H_2SO_4 getrocknet, gaben 0,300 gr. CO_2 und 0,1615 gr. H_2O.
0,2626 gr. verloren, bis 130° getrocknet, 0,0212 gr. an Gewicht und gaben 0,0915 gr. Cu_2S.

Berechnet für $Cu(C_2H_4NO_2)_2 + H_2O$:		Gefunden:
C	20,92	20,78
H	4,36	4,56
H_2O	7,84	8,07
Cu	27,67	27,83 %

Hatte so die bisherige Untersuchung ergeben, dass das Guanin bei der Spaltung durch Salzsäure dieselben Zersetzungsproducte liefert, wie das Xanthin, so hatte die weitere Untersuchung sich darauf zu richten, ob es möglich sei, die Formel, nach der die Spaltung erfolgt, zu ermitteln. Ich habe dieserhalb erstens bestimmt, wieviel Moleküle NH_3 aus dem Guanin-Molekül abgespalten werden, zweitens aus der Gesammtmenge der bei 100° nicht flüchtigen Zersetzungsproducte weitere Schlüsse gezogen.

Erstere Bestimmung geschah in folgender Weise: 0,4965 gr. Guanin wurden durch 10 gr. conc. Salzsäure, wie oben angegeben, gespalten. Der Röhreninhalt wurde mit Wasser genau auf 250 cbcm. verdünnt. Hiervon wurden zweimal je 50 cbcm. mit NaOH destillirt, und im Destillate mit $^1/_{10}$ N-Oxalsäure die Menge des vorhandenen Ammoniaks bestimmt. Destillat I verbrauchte 26,35 cbcm. und Destillat II 26,45 cbcm. $^1/_{10}$ N-Oxalsäure zur Neutralisation. Hieraus ergibt sich, dass aus 0,0993 gr. Guanin $\left[\frac{0,4965}{5} = 0,0993\right]$ (I) 3,69 und (II) 3,703 mgr. Stickstoff in Form von Ammoniak abgespalten waren. Bei der Annahme, dass aus dem Molekül Guanin 4 Atome Stickstoff in Form von Ammoniak abgespalten werden, berechnet sich der Procentsatz für diese 4 Atome Stickstoff auf 37,09. Gefunden wurden (I) 37,16 und (II) 37,29 %; sodass durch diese Versuche dargethan ist, dass aus einem Molekül Guanin, das 5 Atome N enthält, 4 N-Atome in Form von Ammoniak abgespalten werden.

Die Gleichung, nach der die Spaltung des Xanthins vor sich geht:

$$C_5H_4N_4O_2 + 6H_2O = 3NH_3 + C_2H_5NO_2 + 2CO_2 + CH_2O_2$$

modificirt sich also für das Guanin folgendermassen:

$$C_5H_5N_5O + 7H_2O = 4NH_3 + C_2H_5NO_2 + 2CO_2 + CH_2O_2$$

Die schliesslich ausgeführte quantitative Bestimmung der gesammten bei 100° nicht flüchtigen Zersetzungsproducte bestätigte diese Formel. Die restirenden 150 cbcm. obiger Lösung, welche die Zersetzungsproducte von $\frac{3}{5} \times 0,4965$

= 0,2979 gr. Guanin enthielten, wurden in einer Platinschale zur Trockne verdunstet, kurze Zeit bei 100° getrocknet und zur Wägung gebracht. Das Gewicht betrug 0,651 gr. Nach obiger Gleichung aber entstehen aus einem Molekül Guanin 4 Moleküle Chlorammonium und ein Molekül salzsaures Glykokoll, sodass für die Zersetzungsproducte von 0,2979 gr. Guanin der theoretisch berechnete Rückstand 0,6441 gr. beträgt.

Die Art und Weise des Zerfalls des Guanin-Moleküls unter dem Einfluss von Salzsäure wird in folgender Weise veranschaulicht.

```
          NH — CH                                  OH
        /      ||                                   |
NH = C <       C — NH                     NH3      CHO
        \      |      \                            |
          NH — C = N  /  CO   NH4CO3  H2 = C — NH3
                                                   |          CO2
                                          NH3      C    NH3
                                                  / \\
                                                OH   O
```

Verbindungen des Guanins mit Säuren.

Von Verbindungen des Guanins mit Säuren waren bisher bekannt und näher untersucht: das Hydrochlorat, Sulfat, Nitrat, Oxalat und Tartrat.

Capranika machte im Jahre 1880 in einer «Mittheilung über einige neue Guaninreactionen»[1]) auf einige weitere charakteristische Guaninsalze aufmerksam. Er bespricht kurz die krystallinischen Ausscheidungen, welche entstehen, wenn eine Lösung von salzsaurem Guanin mit Kaliumbichromat, Pikrinsäure und Ferricyankalium versetzt wird. Diese drei Verbindungen habe ich zunächst näher untersucht.

Guaninbichromat $(C_5H_5N_5O)_2H_2Cr_2O_7$.

Löst man Guanin in salzsäurehaltigem Wasser und setzt eine Lösung von Kaliumbichromat zu, so entsteht je nach der Concentration der Guaninlösung nach kürzerer oder

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. 4, S. 233.

längerer Zeit eine Ausscheidung von wohlausgebildeten, glänzenden, orangefarbigen Krystallen. Dieselben erscheinen, unter dem Mikroskop betrachtet, als längliche, vierseitige Prismen, welche meist durch Endflächen abgestumpft sind. Die Krystalle können nicht gut mit Wasser in Berührung gebracht werden; schon ein kurzes Auswaschen genügt, um einen Theil der Chromsäure zu entziehen. Schneller und vollständiger erfolgt die Dissociation bei Einwirkung von siedendem Wasser. Etwas über 100° erhitzt, spaltet die Verbindung Wasser ab; auf Platinblech erhitzt, zerstäubt sie unter Funkensprühen.

Zum Zwecke der Analyse wurde die Verbindung zunächst mit einigen Tropfen Schwefelsäure im Platintiegel auf dem Wasserbade erhitzt, bis die Gasentwickelung nachgelassen, dann die grüne sirupöse Flüssigkeit vorsichtig auf freiem Feuer zur Trockne verdampft, und der Rückstand, schliesslich kurze Zeit im Gebläse, geglüht. Das zurückgebliebene, sehr voluminöse Chromoxyd war, wie durch Auskochen mit Wasser constatirt wurde, frei von Schwefelsäure, womit gleichzeitig die Abwesenheit von Kalium nachgewiesen war. Es musste also eine Verbindung des Guanins mit Chromsäure bezw. Bichromsäure vorliegen. Dem entspricht auch die weiterhin constatirte Thatsache, dass sich das Guanin, wenn auch schwer, in heisser wässeriger Chromsäure löst, und sich beim Erkalten der Lösung die gleichen Krystalle abscheiden.

Analyse:

I. Verbindung, erhalten durch Fällung einer salzsauren Guaninlösung mit $K_2Cr_2O_7$.

0,6518 gr., lufttrocken, verloren bei 115° 0,0224 gr.

0,6281 gr., » » » » 0,0208 gr.

0,2789 gr., bei 115° getrocknet, gaben mit H_2SO_4 verascht, 0,0849 gr. Cr_2O_3.

0,3857 gr., bei 115° getrocknet, gaben mit H_2SO_4 verascht, 0,1163 gr. Cr_2O_3.

0,3422 gr., bei 115° getrocknet, gaben 0,298 CO_2 und 0,0662 H_2O.

0,1361 gr., » » » » 33,1 cbcm. N. bei 753 B und 18 T.

II. Verbindung, erhalten durch Lösen von Guanin in wässeriger Chromsäurelösung.

0,3585 gr., lufttrocken, verloren bei 115° 0,0125 gr.

0,3435 gr., bei 115° getrocknet, gaben 0,1033 Cr_2O_3.

Berechnet für $C_5H_5N_5O, CrO_3$:		Gefunden:	
Cr	20,87	I.	20,88
			20,69
		II.	20,64
C	23,86		23,75
N	27,83		27,81
H	1,99		2,15 %

Die Menge des bei 115° aus der Verbindung ausgetretenen Wassers entspricht, auf obige Formel berechnet, einem halben Molekül. Aus der Formel $C_5H_5N_5O, CrO_3 + \frac{1}{2}H_2O$ berechnet sich das halbe Molekül Wasser auf 3,56 %, während (I) 3,44 und 3,33, (II) 3,49 % gefunden wurden.

Auf Grund dieser Analysen muss man entweder annehmen, dass das Guanin sich mit dem Anhydrid der Chromsäure verbindet, sodass die Formel des lufttrockenen Salzes $C_5H_5N_5O, CrO_3 + \frac{1}{2}H_2O$ wäre, oder aber man muss die Verbindung für ein Guaninbichromat halten von der Formel $(C_5H_5N_5O)_2\ H_2Cr_2O_7$, welches über 100° unter Abspaltung von einem Molekül H_2O in ein Chromat von der Formel $C_5H_5N_5O, CrO_3$ übergeht. Für die Annahme eines Bichromats spricht die analoge Verbindung des Adenins, der die Formel $(C_5H_5N_5)_2H_2Cr_2O_7$ zukommt[1]). Das Adeninbichromat ist allerdings auch über 100° beständig, wie überhaupt das Adenin als stärkere Base viel beständigere Verbindungen liefert als das Guanin. Bei dem schwach basischen Charakter des Guanins und der Unbeständigkeit der Bichromsäure, die im freien Zustande kaum, oder doch nur bei niedriger Temperatur existenzfähig ist, kann es nicht Wunder nehmen, dass ein Guaninbichromat bei höherer Temperatur leicht zerfällt; gibt doch selbst das salzsaure Guanin bei höherer Temperatur seine Säure vollständig ab.

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. 16, S. 166.

Guaninpikrat $C_5H_5N_5O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$.

Versetzt man die Lösung eines Guaninsalzes mit Natriumpikrat- oder Pikrinsäurelösung, so scheidet sich alsbald, in ganz verdünnten Lösungen nach einiger Zeit Guaninpikrat aus. Diese Verbindung des Guanins ist charakteristisch durch ihre Krystallform und ihre äusserst schwere Löslichkeit in kaltem Wasser und verdünnten Säuren. Die goldgelben Krystalle — das ebenfalls sehr schwer lösliche Adeninpikrat ist bedeutend heller von Farbe — stellen, unter dem Mikroskop betrachtet, pinselförmige oder farrenkrautartige Gebilde dar; seltener zeigen sich sparrige Drusen grosser Nadeln. Lufttrocken besitzt das Pikrat goldgelbe Farbe, filzartige Beschaffenheit und seidenartigen Glanz. Beim Erhitzen wird es dunkler, fast orangeroth, um beim Abkühlen die ursprüngliche Farbe wieder anzunehmen. Bei 110° verliert es sein Krystallwasser, gleichzeitig verschwindet der Glanz, und die goldgelbe Farbe geht in eine hellgelbe über. Erst bei 190° beginnt das Pikrat sich allmälig zu zersetzen, bei langsam gesteigerter Temperatur verkohlt es allmälig, während es bei schnell gesteigerter Temperatur mit Flamme verbrennt. In beiden Fällen restirt eine reichliche Menge voluminöser Kohle.

Das Guaninpikrat löst sich in fixen und kohlensauren Alkalien, leicht beim Erwärmen. Es folgt hieraus, dass eine Lösung von Guaninnatrium nur durch überschüssige Pikrinsäure gefällt wird. In verdünnten Säuren löst es sich in der Wärme ziemlich leicht, sehr schwer jedoch in der Kälte. Wasser, Alkohol und Ammoniak wirken, zumal beim Erwärmen, dissociirend ein. Aus diesem Grund konnte die Löslichkeit des Pikrates nur indirect bestimmt werden. Ich fand, dass Guanin noch in Lösungen von 1 : 30000 durch Pikrinsäure gefällt wird; doch erfolgt in solcher Verdünnung die Abscheidung des Pikrates erst nach längerer Zeit.

Das Guaninpikrat krystallisirt mit 1 Molekül Krystallwasser. Lufttrocken hat es die Formel $C_5H_5N_5O, C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$. Hiernach berechnet sich das Krystallwasser auf 4,52 %, während 4,62, 4,66 und 4,54 % gefunden wurden.

Analyse:

0,1689 gr., bei 120° getrocknet, gaben 0,2141 gr. CO_2 u. 0,0357 gr. H_2O.
0,1421 gr., bei 120° getrocknet, gaben 35,8 cbcm. N bei 16,9 T u. 761,5 B.

Berechnet für $C_5H_5N_5OC_6H_2(NO_2)_3OH$:		Gefunden:
C	34,74	34,52
H	2,11	2,35
N	29,47	29,30 %

Ferricyanwasserstoffsaures Guanin.
$(C_5H_5N_5O)_4H_3Fe(CN)_6 + 8H_2O$.

Wird eine salzsaure Guaninlösung mit einer Lösung von rothem Blutlaugensalz versetzt, so scheiden sich nach einiger Zeit kleine, glänzende, braungelbe Krystalle ab. Dieselben erscheinen, unter dem Mikroskop betrachtet, als vier- oder sechsseitige Prismen mit je zwei Endflächen, von denen die eine meist bedeutend grösser ist als die andere. Bei 100° getrocknet, verliert die Verbindung sehr langsam an Gewicht; erst bei mehrstündigem Trocknen auf 120—130° verliert sie das Krystallwasser ganz, während gleichzeitig die braungelbe Farbe einer dunkelgrünen Platz macht. Das Salz hinterliess, mit Schwefelsäure verascht, reines Eisenoxyd, musste also für eine Verbindung des Guanins mit Ferricyanwasserstoffsäure angesprochen werden.

Die Analyse ergab, dass das Salz eine eigenartige Zusammensetzung hat, insofern 1 Molekül $H_3Fe(CN)_6$ sich mit 4 Molekülen Guanin verbindet. Dem lufttrockenen Salz kommt die Formel $(C_5H_5N_5O)_4H_3Fe(CN)_6 + 8H_2O$ zu.

Analyse:

0,256 gr., lufttrocken, gaben, mit H_2SO_4 verascht, 0,0212 Fe_2O_3.
0,1585 gr., » » » » » 0,0131 Fe_2O_3.
0,2253 gr., » » » » » 0,0189 Fe_2O_3.

0,2413 gr., lufttrocken, gaben 0,284 gr. CO_2 u. 0,0861 gr. H_2O.

0,1156 gr., lufttrocken, gaben 39,2 cbcm. N bei 21,2 T u. 751 B.
0,1156 gr., » » 38,6 cbcm. N bei 19,5 T u. 752,5 B.

0,3045 gr., lufttrocken, verloren beim Trocknen bis 130° 0,0455 gr.
0,242 gr., » » » » » » 0,037 gr.

Berechnet für: $(C_5H_5N_5O)_4H_3Fe(CN)_6 + 8H_2O$:		Gefunden:
Fe	5,82	5,79 5,78 5,87
C	32,39	32,09
N	37,79	38,08 37,89
H	4,05	3,97
H_2O	14,95	14,94 15,29

Die eigenartige Zusammensetzung des Salzes muss allerdings befremden. Es muss jedoch in Betracht gezogen werden, dass einerseits die als dreiwerthig geltende Ferricyanwasserstoffsäure nicht immer in ihren Verbindungen dreiwerthig auftritt. So kommt dem ferricyanwasserstoffsauren Chinin die Formel $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $H_3Fe(CN)_6$ zu. Auf der anderen Seite muss berücksichtigt werden, dass das Guanin, das ja allerdings zumeist als einsäurige Base auftritt, auch mit anderen Säuren Salze bildet, die eine anormale Zusammensetzung zeigen. So sind 4 verschiedene Nitrate des Guanins dargestellt worden, verschieden insofern, als das Verhältniss der Base zur Säure in allen ein anderes ist. Auch das Oxalat und Tartrat sind eigenartig zusammengesetzt, indem in beiden 2 Moleküle der entsprechenden Säure mit 3 Molekülen Guanin verbunden sind.

Auch mit Ferrocyanwasserstoffsäure verbindet sich das Guanin. Das Salz stellt fast farblose Nadeln dar, ist aber wenig charakteristisch, weshalb ich von einer Analyse Abstand genommen habe.

Das Adenin gibt ebenfalls mit beiden Säuren Salze, deren Zusammensetzung aber bisher noch nicht ermittelt ist.

Nitroferricyanwasserstoffsaures Guanin.
$(C_5H_5N_5O)_2H_2(CN)_5NOFe + 1^1/_2H_2O$.

Versetzt man eine Lösung von salzsaurem Guanin mit einer Lösung von Nitroprussidnatrium, so scheiden sich nach einiger Zeit am Boden der Flüssigkeit ziemlich grosse, glänzende, hellziegelrothe Krystalle ab. Dieselben erscheinen

bei entsprechender Vergrösserung als vierseitige Säulen mit zugespitzten Enden. Durch die Analyse wurde für das Salz die Formel $(C_5H_5N_5O)_2\ H_2(CN)_5NOFe + 1^1/_2 H_2O$ festgestellt. Es ist bemerkenswerth, dass dieses Salz im Gegensatz zu dem ferricyanwasserstoffsauren Guanin eine normale Zusammensetzung hat.

Analyse:

0,3567 gr., lufttrocken, verloren, bis 120° getrocknet, 0,0175 gr.
0,1015 gr., » » » » » 0,0052 gr.
0,16 gr., lufttrocken, gaben, mit H_2SO_4 verascht, 0,024 gr. Fe_2O_3.
0,1015 gr., » » » » » 0,015 gr. Fe_2O_3.
0,425, lufttrocken, gaben 0,588 Guaninpikrat[1]).

Berechnet für: $(C_5H_5N_5O)_2H_2(CN)_5NOFe + 1^1/_2 H_2O$:		Gefunden:
Fe	10,24	10,5 10,34
$C_5H_5N_5O$	55,21	54,96
H_2O	4,94	4,91 5,12

Guanin-Metaphosphat $C_5H_5N_5O,\ HPO_3 + xH_2O$.

Eine sehr charakteristische Verbindung des Guanins ist das Guanin-Metaphosphat, charakteristisch wegen ihrer äusserst geringen Löslichkeit in Wasser und verdünnten Säuren. Die Metaphosphorsäure muss daher als ein vorzügliches Reagens auf Guanin betrachtet werden.

Pohl[2]) constatirte bereits, dass salzsaures Guanin mit Natriummetaphosphat einen in überschüssiger Säure unlöslichen Niederschlag hervorruft, der sich leicht in Alkalien löst.

L. Liebermann bespricht[3]) ebenfalls diese Metaphosphorsäure-Verbindung des Guanins. Er sagt, dass Guanin, in verdünnter Natronlauge gelöst, mit Metaphosphorsäure erst einen weissen flockigen, dann bei Zusatz von mehr Metaphosphorsäure einen krystallinischen Niederschlag gebe. Letzteren erklärt er für ein Neutralisationspräcipitat, das aus

---

[1]) Ueber die quantitative Bestimmung des Guanins als Pikrat s. S. 495.
[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 293.
[3]) Centralbl. f. med. Wissensch., 1889, S. 225.

reinem Guanin bestehe, während der anfangs entstehende flockige Niederschlag eine Verbindung sei von Guanin, Natrium und Metaphosphorsäure, welche Verbindung durch einen Ueberschuss von Metaphosphorsäure zersetzt werde.

Fällt man nach Pohl salzsaure Guaninlösung mit Natriummetaphosphat oder nach Liebermann Guaninnatriumlösung mit Metaphosphorsäure, so entsteht auf der Stelle und selbst in äusserst verdünnten Lösungen eine feinflockige Ausscheidung, die der Flüssigkeit ein milchiges Aussehen gibt. Erst nach Verlauf längerer Zeit hat sich ein weisser Niederschlag am Boden abgesetzt, während die überstehende Flüssigkeit völlig klar erscheint. Infolge seiner Feinheit filtrirt der Niederschlag anfangs trübe, verstopft aber bald die Poren des Filters so, dass das Auswaschen sehr erschwert ist. Unter dem Mikroskop betrachtet, bildet der Niederschlag äusserst feine, membranöse Massen. Er löst sich leicht in Alkalien, beim Erwärmen auch in verdünnten Säuren, schwer — analog der Löslichkeit des Guanins — in Ammoniak. Löst man die Verbindung in Alkali und übersättigt mit Säure, so fällt sie unverändert aus. Wird aber die alkalische Lösung einige Zeit erwärmt, so wird allmälig die Meta- in Orthophosphorsäure übergeführt. Fügt man nunmehr tropfenweise Salzsäure zu, so entsteht, wenn die Lösung neutral ist, eine Fällung von Guanin, das aber, selbst in der Kälte, durch weiteren Zusatz weniger Tropfen Salzsäure leicht in Lösung geht.

Derselbe Niederschlag von Guanin und Metaphosphorsäure entsteht, wenn man eine saure Guaninlösung mit Metaphosphorsäure versetzt. Wendet man eine siedend heisse Lösung an, so erfolgt in verdünnteren Lösungen die Abscheidung des Niederschlages weniger plötzlich, und letzterer erscheint mehr oder weniger krystallinisch. Die Gegenwart gewisser anorganischer Salze beeinträchtigt die Fällung insofern, als der Niederschlag erst nach relativ längerer Zeit sich abscheidet. Concentrirte Salzlösungen wirken auch, wenngleich nur in geringem Grade, lösend ein. Namentlich wirkt in dieser Hinsicht Magnesiumsulfat.

Die Fällung des Guanins durch Metaphosphorsäure ist in allen Fällen eine so vollständige, dass im Filtrat durch Pikrinsäure kein Guanin mehr nachzuweisen ist, während Silberlösung nur eine geringe flockige Ausscheidung hervorruft.

Sollte man nach den Mittheilungen Liebermann's erwarten, dass die Metaphosphorsäure-Verbindung des Guanins sehr unbeständig und von nicht einheitlicher Natur ist, so ergab die nähere Untersuchung gerade das Gegentheil. Nach welcher Weise auch immer die Verbindung dargestellt wurde, sie zeigte stets denselben Gehalt an Phosphor, und im Gegensatz zu anderen sehr zur Dissociation neigenden Salzen des Guanins muss sie als eine constante bezeichnet werden.

Ich habe zunächst in verschiedenen Präparaten Phosphorbestimmungen gemacht. In Präparat I, erhalten durch Fällung einer salzsauren Guaninlösung mit überschüssiger Metaphosphorsäure, betrug der Phosphorgehalt 13,09 %; Präparat II, erhalten durch Fällung einer salzsauren Guaninlösung mit einer zur Fällung des gelösten Guanins nicht hinreichenden Menge Metaphosphorsäure, wies einen Gehalt von 12,87 % P. auf; im Präparat III α, das nach Liebermann durch Fällung von Guaninnatriumlösung mit überschüssiger Metaphosphorsäure erhalten war, betrug der Phosphorgehalt 12,84 %; in einem auf dieselbe Weise dargestellten Präparat III β 13,15 %. Sämmtliche Phosphorbestimmungen wurden nach Carius' Methode ausgeführt. Zur Fällung wurde z. Th. Metaphosphorsäure des Handels (acid. phosphoric. glaciale), z. Th. eine Säure verwandt, welche durch allmäliges Eintragen von P_2O_5 in Wasser erhalten war. Die Substanzen für die Analyse waren bei 120° getrocknet.

Der mit ziemlicher Genauigkeit übereinstimmende Phosphorgehalt in den verschiedenen Präparaten lässt mit Sicherheit schliessen, dass das Guanin sich mit der Metaphosphorsäure in einem bestimmten Verhältniss verbindet. Die Angaben Liebermann's müssen daher als unrichtig bezeichnet werden. Präparat III β wurde auf folgende Weise erhalten: 0,5 gr. Guanin wurde mit Hülfe von wenigen Tropfen Natronlauge in Wasser gelöst, und die stark verdünnte Lösung mit

einer Lösung von Metaphosphorsäure versetzt, die durch Eintragen von 5 gr. P_2O_5 in Wasser bereitet war. Bei dem grossen Ueberschuss von HPO_3 hätte sich also jenes «Neutralisationspräcipitat» Liebermann's bilden müssen. Gleichwohl betrug der Phosphorgehalt 13,15 %.

Das Natrium, welches Liebermann in dem Niederschlage zu erkennen glaubte, dürfte mechanisch beigemengt gewesen sein. Dies erscheint um so eher erklärlich, als der Niederschlag nur schwer auszuwaschen ist.

Die Analyse der Verbindung ergab die Formel $C_5H_5N_5O, HPO_3$ + aq. Getrocknet stellt die Verbindung ein weisses Pulver dar. Die sich amorph abscheidende Verbindung backt meist beim Trocknen zu einer festen, porzellanartigen Masse zusammen. Sie verbrennt äusserst schwer; auf Platinblech über dem gewöhnlichen Bunsen-Brenner erhitzt, hinterlässt sie eine reichliche Menge einer grossblasigen Kohle, die erst im Gebläse unter Hinterlassung eines reinweissen Rückstandes völlig verbrennt.

Der bei 120° getrockneten Verbindung haftet noch Wasser an, dessen Menge sich bei den zur Analyse verwandten Präparaten auf $^1/_2$ Molekül berechnet. Auf diesen Wassergehalt komme ich an anderer Stelle nochmals zu sprechen.

Analyse der bei 120° getrockneten Verbindung:

0,3375 gr. gaben 0,3095 CO_2 u. 0,101 gr. H_2O.

0,16 gr. gaben 38,6 cbcm. N bei 17,2 T u. 777,5 B.

0,196 gr. wurden zu einer Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl verwandt; verbraucht wurden zur Sättigung des Destillates 39,95 cbcm. $^1/_{10}$ N-Oxalsäure.

Berechnet für: $C_5H_5N_5O, HPO_3 + {}^1/_2 H_2O$:		Gefunden:
C	25,00	25,01
H	2,92	3,32
N	29,16	28,62; 28,54
P	12,92	13,09; 12,87; 12,84; 13,15

Liebermann hat bekanntlich die Hypothese aufgestellt, dass das Nuclein metaphosphorsaures Eiweiss sei, welches die metaphosphorsauren Salze der stickstoffreichen Basen als mechanische Beimengung enthalte. Obgleich diese Ansicht schon als widerlegt zu betrachten ist, so dürfte es doch der Erwähnung werth sein, dass die Löslichkeitsverhältnisse des metaphosphorsauren Guanins sich mit dieser Hypothese nicht vereinigen lassen. Metaphosphorsaures Guanin ist z. B. in Ammoniak sehr schwer löslich, Nuclein hingegen löst sich mit der grössten Leichtigkeit in sehr verdünnter Ammoniakflüssigkeit auf.

Auch das Adenin bildet mit der Metaphosphorsäure eine analoge Verbindung. Näheres hierüber Seite 506.

Verbindungen des Guanins mit Säuren und Basen.

Guaninsilberpikrat $C_5H_4AgN_5O, C_6H_2(NO_2)_3OH + 1^1/_2 H_2O$.

Siedend heisse verdünnte Guaninsalzlösungen werden durch Pikrinsäure nicht sogleich gefällt, da sich das Guaninpikrat in der Hitze in reichlicher Menge löst. Versetzt man eine solche Lösung, in der sich das Guaninpikrat noch nicht abgeschieden hat, mit einer Lösung von Silbernitrat, so bildet sich — natürlich ist die Gegenwart von Salzsäure ausgeschlossen — auf der Stelle ein citronengelber, voluminöser, amorpher Niederschlag, der sich bald zu Boden setzt. Trägt man Sorge, dass ein Ueberschuss von Pikrinsäure im Verhältniss zum Guanin vorhanden ist, sodass eine gleichzeitige Abscheidung von Guaninsilbernitrat ausgeschlossen ist, so entspricht der entstehende Niederschlag lufttrocken der Formel $C_5H_4AgN_5O, C_6H_2(NO_2)_3OH + 1^1/_2 H_2O$.

Die Verbindung ist in heissem Wasser sehr schwer löslich, in kaltem nahezu unlöslich; sie neigt jedoch zur Dissociation, indem durch Berührung mit Wasser ihr ein Theil der Pikrinsäure entzogen wird. Durch Einwirkung von Ammoniak kann die Pikrinsäure leichter und fast vollständig entfernt werden, sodass schwach gelb gefärbtes Guaninsilber restirt.

Das für die Analyse dargestellte Präparat wurde nicht mit Wasser ausgewaschen, es wurde die Fällung in sehr verdünnter Lösung vorgenommen, der Niederschlag abfiltrirt, gut abgesaugt und zwischen Fliesspapier gepresst.

Analyse:

0,9365 gr., lufttrocken, verloren beim Trocknen bis 130° 0,052 gr.
0,5152 gr., » » » » » » 0,0275 gr.

0.138 gr., bei 130° getrocknet, gaben durch Glühen 0,0308 gr. Ag.
0,1865 gr., » » » » » » 0,0411 gr. Ag.

0,7606 gr., bei 130° getrocknet, wurden mit sehr stark verdünnter Salzsäure digerirt, heiss vom Chlorsilber abfiltrirt. Die Menge des aus dem Filtrat abgeschiedenen Guaninpikrates betrug, bei 110° getrocknet, 0,5803 gr.[1]).

0,125 gr., bei 130° getrocknet, gaben 23,9 cbcm. N bei 773 B u. 16 T.

Berechnet für: $C_5H_4AgN_5O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH$:		Gefunden:
Ag	22,18	22,32 / 22,04
$C_5H_5N_5O$	31,01	30,32
N	23,00	22,67 %

Die Formel $C_5H_4AgN_5O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + 1^1/_2\ H_2O$ verlangt 5,25 % Krystallwasser; gefunden wurden 5,55 und 5,34 %.

Verbindung $C_5H_5N_5O$, HJ, $2BiJ_3 + 2H_2O$.

Guaninsalzlösungen werden selbst in sehr verdünnten Lösungen durch eine Lösung von Kaliumwismuthjodid gefällt.

Die von mir untersuchte Verbindung wurde in der Weise erhalten, dass zu einer heissen jodwasserstoffsauren Guaninlösung eine Lösung von Kaliumwismuthjodid zugefügt wurde. Letztere war nach der Vorschrift von Kraut[2]) bereitet, so zwar, dass Wismuthnitrat in möglichst wenig verdünnter Salpetersäure gelöst, und dieser Lösung allmälig eine Jodkali-Lösung bis zum Verschwinden des anfangs entstehenden Niederschlages zugefügt wurde. In der Guaninlösung, die in der Wärme zunächst klar blieb, begann alsbald

[1]) cfr. S. 495.
[2]) Annal. d. Chem. u. Pharm., Bd. 210, S. 310.

mit dem Erkalten eine Abscheidung von rothen Krystallen, und nach 24 Stunden war die Flüssigkeit in einen Krystallbrei verwandelt. Unter dem Mikroskop erschienen die Krystalle als feine, ziemlich lange, rothe Nadeln. Beim Absaugen schrumpft die sehr voluminöse krystallinische Ausscheidung ausserordentlich zusammen und stellt lufttrocken eine lockere, tiefrothe Masse dar. Beim Erhitzen nimmt sie schon unter 100° unter Wasserverlust eine schwarzviolette Farbe an. Mit Wasser lässt sich die Verbindung nicht gut ohne Zersetzung in Berührung bringen, es tritt alsbald, indem gleichzeitig die tiefrothe Farbe einer helleren, ziegelrothen Platz macht, Zersetzung ein.

Die von Jörgensen[1]) empfohlene Methode zur Analyse der Jodwismuthverbindungen durch Kochen derselben mit Ammoniumcarbonat und Bestimmung des Jods als Jodsilber im Filtrat erwies sich für vorliegende Verbindung nicht recht geeignet; ebenso zeigte sich, dass das durch Schwefelwasserstoff aus der schwefelsauren Lösung des Doppelsalzes gefällte Schwefelwismuth reichliche Mengen Jod enthielt, sodass auch eine Wismuthbestimmung auf diese Weise nicht möglich war.

Ich verfuhr daher in der Weise, dass ich die Verbindung durch Erhitzen im geschlossenen Rohr nach Carius' Methode unter Zugabe von $AgNO_3$ mit rauchender Salpetersäure zersetzte. Das Jod wurde als Jodsilber bestimmt, das überschüssige Silber durch Salzsäure gefällt, und im Filtrat das Wismuth als Bi_2O_3 bestimmt.

Analyse:

0,855 gr., bei 100° getrocknet, lieferten 0,9589 AgJ u. 0,2673 Bi_2O_3.

	Berechnet für: $C_5H_5N_5O$, HJ, 2 BiJ_3:	Gefunden:
J	61,06	60,61
Bi	28,50	28,02

Das Krystallwasser berechnet sich nach der Formel $C_5H_5N_5O$, HJ,2 BiJ_3 + 2 H_2O auf 2,47 %, während 2,59 und 2,34 % gefunden wurden.

---

[1]) Annal. d. Chemie u. Pharm., Bd. 210, S. 312.

Ester des Guanins.

Das Guanin ist im Stande, an Stelle eines Wasserstoffatoms ein Säureradikal aufzunehmen, wodurch gut krystallisirende esterartige Verbindungen entstehen. Die Anlagerung des Acetyl- und Propionyl-Radikals gelang ziemlich leicht, schwer die Anlagerung der Benzoylgruppe. Resultatlos verliefen Versuche zur Darstellung eines Phtalyl-Guanins.

Acetyl-Guanin $C_5 H_4 N_5 O COCH_3$

Gut getrocknetes und fein gepulvertes Guanin wurde mit der zehnfachen Menge Essigsäure-Anhydrid zunächst auf 125°, dann längere Zeit bis zum schwachen Sieden des Anhydrids erhitzt. Beim Erkalten des Reactionsgemisches zeigten sich neben unverändert gebliebenem Guanin kleine Krystallgebilde. Das überschüssige Anhydrid wurde durch wiederholtes Schütteln mit Aether entfernt, und der Rückstand, bestehend aus Guanin und Acetyl-Guanin, mit Wasser ausgekocht. Aus dem heissen Filtrat schieden sich beim Erkalten kleine, farblose, seidenglänzende Nadeln ab, welche nochmals aus starkwässerigem Alkohol umkrystallisirt wurden.

Das Acetylguanin löst sich sehr schwer in kaltem Wasser — in ca. 4000 Theilen —, noch schwerer in kaltem Alkohol, in Aether ist es nahezu unlöslich. In der Siedehitze löst es sich in ca. 150 Theilen Wasser, weniger leicht in heissem Alkohol. Durch verdünnte Säuren und Alkalien, auch durch Ammoniak wird es mit Leichtigkeit gelöst, zumal beim Erwärmen. Durch Einwirkung von Säuren und Alkalien in der Hitze tritt alsbald völlige Verseifung ein; löst man dagegen die Verbindung in kalter verdünnter Natronlauge und leitet Kohlensäure ein, so fällt sie unzersetzt wieder aus. Ebenso ist der Ester gegen Wasser, selbst in der Siedehitze, beständig: ich überzeugte mich, dass aus einer wässerigen Lösung, die längere Zeit im Sieden erhalten wurde, beim Erkalten nur wohlausgebildete Kryställchen, aber kein amorphes Guanin sich abschied.

Bis 260° erhitzt, bleibt die Verbindung äusserlich unverändert.

Analyse:

0,2235 gr., bei 105° getrocknet, gaben 0,3557 gr. CO_2 u. 0,0775 gr. H_2O.
0,1455 gr., » » » » 45,3 cbcm. N bei 18,4 T u. 776 B.

Berechnet für: $C_5H_4N_5OCOCH_3$:		Gefunden:
C	43,52	43,40
H	3,63	3,85
N	36,27	36,65

Propionyl-Guanin $C_5H_4N_5O\ COCH_2CH_3$.

3 gr. gut getrocknetes und fein gepulvertes Guanin wurden in einem Kölbchen mit 15 gr. Propionsäure-Anhydrid am Rückflusskühler 6 Stunden lang gekocht. Das erkaltete Reactionsgemisch wurde, nachdem das überschüssige Anhydrid durch Entäthern entfernt war, mit Wasser ausgekocht. Es zeigte sich, dass der bei weitem grössere Theil des angewandten Guanins nicht in Reaction getreten war, mithin beim Auskochen mit Wasser ungelöst blieb, während der kleinere Theil als Propionylguanin in Lösung ging und sich beim Erkalten in eigenartig ausgebildeten Krystallen abschied. Unter dem Mikroskope erschienen diese als meist etwas längliche Blättchen oder Schuppen mit häufig gezackten Rändern. Die sehr voluminöse Krystall-Ausscheidung schrumpft beim Absaugen sehr zusammen und bildet getrocknet eine leichte, filzartige, weisse Masse von perlmutterartigem Glanz.

Die Eigenschaften des Propionyl-Guanins entsprechen im Uebrigen denen der analogen Acetyl-Verbindung. Bis 260° erhitzt, verändert es äusserlich seine Eigenschaften nicht.

Analyse:

0,278 gr., bei 105° getrocknet, gaben 0,4695 gr. CO_2 u. 0,112 gr. H_2O.
0,1163 gr., » » » » 35,1 cbcm. N bei 23 T u. 764 B.

Berechnet für: $C_5H_4N_5OCOCH_2CH_3$:		Gefunden:
C	46,37	46,06
H	4,35	4,48
N	33,82	34,19

Benzoyl-Guanin. $C_5H_4N_5O\ COC_6H_5$.

Hatte sich schon bei der Darstellung der Propionylverbindung ergeben, dass das Propionsäureanhydrid weit

weniger energisch auf das Guanin einwirkt, als das Anhydrid der Essigsäure, so treten analoge Erscheinungen in noch höherem Grade hervor bei der Darstellung des Benzoylguanins.

1 gr. scharf getrocknetes Guanin wurde mit 5 gr. Benzoesäure-Anhydrid innig verrieben, und das Gemisch in einem trockenen Reagensglase längere Zeit auf 100° erhitzt. Beim Erkalten erstarrte die Schmelze zu einem gummiartigen, undurchsichtigen Kuchen. Derselbe wurde fein verrieben, durch wiederholtes Behandeln mit Aether das Anhydrid völlig entfernt, das restirende Product mit Wasser ausgekocht und filtrirt. Aus dem Filtrat schieden sich beim Erkalten kleine Kryställchen von Benzoyl-Guanin aus, die dem unbewaffneten Auge als kleine, rundliche Körnchen erschienen, unter dem Mikroskop betrachtet, aus feinen, meist sternartig oder büschelförmig gruppirten Nadeln bestanden.

Die Ausbeute war nur gering, indem nur ca. 0,2 gr. des Benzoylderivates erhalten wurden.

Ich habe diese Versuche mehrfach wiederholt, ohne ein besseres Resultat hinsichtlich der Ausbeute zu erzielen. Auch durch Einschliessen von Guanin mit Benzoesäureanhydrid in ein Rohr und Erhitzen auf 150—180° (bald über 200° tritt Bräunung ein) wurde eine wesentlich bessere Ausbeute nicht erhalten.

Versuche, die Verbindung durch Einwirkung von Benzoylchlorid auf Guanin oder Guaninsilber zu erhalten, verliefen resultatlos. Desgleichen wurde constatirt, dass, was vorauszusehen war, die Schott'en-Baumann-sche Methode zur Benzoylirung des Guanins nicht anwendbar ist.

Das Benzoylguanin löst sich schwer in heissem Wasser und Alkohol, in Aether ist es unlöslich. Es zersetzt sich unter Braunfärbung erst bei sehr hoher Temperatur. Gegen Wasser, selbst in der Siedehitze, ist die Verbindung ziemlich constant; schneller tritt durch Einwirkung von verdünnten Säuren in der Hitze Verseifung ein.

Analyse:

0,182 gr., bei 100° getrocknet, gaben 0,3729 gr. CO_2 u. 0,063 gr. H_2O.
0,0587 gr., » » » » 14,1 cbcm. N bei 760,5 u. 19,5 T.

Berechnet für $C_5H_4N_5OCOC_6H_5$:		Gefunden:
C	56,47	55,88
H	3,53	3,84
N	27,45	27,55

Ueber Alkylderivate des Guanins.

Ich erwähnte bereits S. 473 die Versuche von E. Fischer und Reese, welche darauf gerichtet waren, Alkylderivate des Guanins zu erhalten. Die Darstellung dieser musste aus dem Grunde von Wichtigkeit sein, als es durch Spaltung dieser Körper gelingen musste, eine völlige Aufklärung über die Constitution des Guanins zu erhalten, d. h. die noch unentschiedene Frage zu beantworten, an welcher Stelle sich die Guanidingruppe befindet, ob also die in Fig. I oder Fig. II angedeutete Constitutionsformel die richtige ist.

```
           CH — NH                           CH — NH
           ||       \                         ||       \
      NH — C         > CO               NH — C          > CNH
NHC <      |        /          CO <          |         /
      N  = C  —  NH                     N  = C  —  NH
        Fig. 1.                              Fig. 2.
```

Die Versuche, die Fischer und Reese in dieser Hinsicht anstellten, bestanden darin, dass sie Jodmethyl auf die Silber- und Bleiverbindung des Guanins einwirken liessen. Die Reaction verlief nicht im gewünschten Sinne, dieselbe war vielmehr so complexer Natur, dass die entstandenen Producte nicht untersucht werden konnten.

Ich habe nun versucht, ob es auf andere Weise möglich sei, zu Alkylverbindungen des Guanins zu gelangen. Leider waren auch meine Versuche nur theilweise von Erfolg begleitet.

Zunächst liess ich Benzylchlorid auf Guanin einwirken, so zwar, dass ich eine Lösung von Guanin in verdünnter Natronlauge mit Benzylchlorid (1 Molekül des letzteren auf

1 Molekül Guanin) in wässerig-alkoholischer Lösung mehrere Stunden am Rückflusskühler kochte. Die Mischung färbte sich braungrün bis grün. Nach dem Verjagen des Alkohols wurde mit HCl neutralisirt. Es zeigte sich, dass auch hier die Reaction nicht einheitlich verlaufen war: das ausgeschiedene Product konnte von der grossen Menge der harzigen Beimengungen nicht befreit werden, sodass ein analysenreiner Körper nicht zu erhalten war.

Ebensowenig war es möglich, durch Kochen von Benzylchlorid mit Guanin — auf analoge Weise hatte Thoiss[1]) ein Benzylderivat des Adenins mit Leichtigkeit erhalten — zu einer Benzylverbindung des Guanins zu gelangen, indem hier alsbald ein Verharzen des Gemisches eintrat.

Von Erfolg begleitet war der Versuch der Darstellung eines Aethyl-Guanins.

4,5 gr. Guanin wurden in 2 gr. NaOH und 120 gr. H_2O gelöst, der Lösung eine Mischung von 5 gr. Jodäthyl und 360 gr. Alkohol zugegeben, das Gemisch mehrere Stunden am Rückflusskühler gekocht. Es war die Menge des Jodäthyls so gewählt, dass ein H des Guanin-Moleküls durch C_2H_5 substituirt werden sollte. Das Reactionsgemisch wurde mit HCl schwach angesäuert und mit Ammoniak wieder schwach alkalisch gemacht. Es trat eine reichliche Fällung ein. Der Alkohol wurde nun verdunstet, das ausgeschiedene Product abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen und mit einer grossen Menge Wasser ausgekocht. Beim Erkalten des Filtrats setzte sich ein voluminöser Niederschlag zu Boden. Unter dem Mikroskop erblickte man kleine nadelförmige Krystalle neben amorphen aus Guanin bestehenden Körnchen. Durch mannigfaches Umkrystallisiren wurde schliesslich ein reines Aethyl-Guanin erhalten.

Getrocknet bildet die Verbindung eine leichte, weisse Masse. Sie löst sich schwer in Wasser, sehr schwer in Alkohol, leicht in Mineralsäuren. Als Derivat des Guanins zeigt sie im Wesentlichen dieselben Reactionen wie die Mutter-

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 396.

substanz: sie liefert eine in Ammoniak sehr schwer lösliche Silberverbindung, ein schön krystallisirendes Pikrat u. s. w.

Die siedend heisse wässerige Lösung wird durch Goldchlorid gefällt. Bis 280° erhitzt, zeigte die Verbindung sich äusserlich nicht verändert.

Analyse:

0,2688 gr., bei 100° getrocknet, gaben 0,4589 gr. CO_2 u. 0,1243 gr. H_2O.

Berechnet für: $C_5H_4N_5OC_2H_5$:		Gefunden:
C	46,93	46,55
H	5,03	5,13

Meine weiteren Versuche waren nun darauf gerichtet, ein Dimethylderivat des Guanins zu erhalten. Ich liess zu dem Zwecke 2 Moleküle Jodmethyl unter gleichen Bedingungen auf ein Molekül Guanin einwirken. Die Reaction verlief jedoch hier nicht im gewünschten Sinne: es wurde neben einem schwer löslichen Körper, der nach einer Stickstoffbestimmung ein Monomethylguanin darzustellen schien, eine leicht lösliche Verbindung erhalten. Dieselbe erwies sich durch die Analyse als ein nicht einheitlicher Körper. Er enthielt, obwohl ihm keine Spuren von Jodnatrium anhafteten, eine nicht unbeträchtliche Menge Jod. Es musste also mit grosser Wahrscheinlichkeit ein methylirtes Guanin mit angelagertem Jodmethyl vorliegen. Ein einheitlicher, analysenreiner Körper konnte daraus nicht erhalten werden.

Da mein Vorrath an Guanin ziemlich verbraucht war, ein weiteres erfolgreiches Eindringen in das Gebiet der Alkylderivate des Guanins aber nach den gemachten Erfahrungen, wenn überhaupt auf dem eingeschlagenen Wege, so doch nur mit Aufwendung von grossen Mengen Guanin möglich zu sein schien, habe ich diese Untersuchungen abbrechen müssen.

Quantitative Bestimmung des Guanins als Guaninpikrat.

Gelegentlich der Besprechung des Guaninpikrates hob ich bereits die geringe Löslichkeit desselben hervor, die es

möglich macht, dass verdünnte Guaninlösungen noch im Verhältniss von 1:30000 gefällt werden. Es musste daher die Möglichkeit vorhanden sein, das Guanin aus sauren und neutralen Lösungen durch Pikrinsäure bei Abwesenheit von anderen durch letztere ebenfalls fällbaren Substanzen nahezu quantitativ zu fällen und als Guaninpikrat zu bestimmen. Eine für diesen Zweck nachtheilige Eigenschaft des Pikrates ist die Neigung zur Dissociation, die ihm wie den meisten Guaninsalzen eigen ist.

Gleichwohl ist man nach folgendem, von mir erprobten Verfahren in der Lage, mit hinreichender Genauigkeit das Guanin in Form seines Pikrates quantitativ zu bestimmen.

Man versetzt die neutrale oder saure Lösung, in der das Guanin bestimmt werden soll, mit einer zur Fällung ausreichenden Menge kalt gesättigter Pikrinsäure-Lösung. Ein Ueberschuss letzterer ist an und für sich unschädlich; es ist hier aber in Erwägung zu ziehen, dass die Löslichkeit der Pikrinsäure in stark sauren Lösungen eine beträchtlich geringere ist als in neutralen, und dass daher eventl. eine Abscheidung von Pikrinsäure erfolgen kann. Man nimmt die Fällung am besten in der Wärme vor, da sich dann das Pikrat besser krystallisirt abscheidet. Nach Verlauf von 24 Stunden wird abfiltrirt. Ein früheres Abfiltriren empfiehlt sich nicht, da die vollständige Abscheidung des Pikrates erst allmälig erfolgt. Man saugt das auf das Filter gebrachte Pikrat gut ab und wäscht es mit 1procentiger Pikrinsäure-Lösung aus. Nach abermaligem Absaugen nimmt man es dann vom Filter herunter, bringt es zwischen Uhrgläschen und trocknet es bei allmälig steigender Temperatur, zuletzt zur Vertreibung des Krystallwassers $1^1/_2$ Stunde bei 110°. Da das Pikrat sehr voluminös ist, gut krystallisirt und nach dem Absaugen eine zusammenhängende filzige Masse bildet, so lässt es sich ohne nennenswerthen Verlust vom Filter herunternehmen. Die seit einiger Zeit im Handel befindlichen sogenannten gehärteten Filter sind hierfür besonders geeignet, da sie sowohl wegen ihrer Glätte ein sehr vollständiges Ab-

nehmen des Pikrates vom Filter ermöglichen, als auch weil sie wegen ihrer Stärke ein gutes Absaugen des Pikrates gestatten. Aus dem bei 110° getrockneten Pikrat, das die Formel $C_5H_5N_5O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH$ hat, berechnet man die Menge des Guanins. Es ergibt sich natürlich ein geringes Plus, herrührend von der dem Pikrat anhaftenden Pikrinsäure. Hat man das feuchte Pikrat, nachdem es zwischen die Uhrgläschen gebracht ist, vor dem Trocknen ebenfalls gewogen, so lässt sich dieses Plus aus der Gewichtsdifferenz des feuchten und des getrockneten Pikrates unter gleichzeitiger Berücksichtigung des Umstandes, dass dasselbe beim Trocknen noch 1 Molekül Krystallwasser verliert, leicht berechnen und in Abzug bringen. Das Pikrat mit dem Filter zu trocknen, empfiehlt sich nicht, da das mit Pikrinsäure imprägnirte Filtrirpapier bei höherer Temperatur angegriffen wird.

Im Folgenden führe ich Versuche an, welche ich nach dieser Methode ausführte, und bei denen die verschiedensten Fälle berücksichtigt sind.

No.	Angewandtes Guanin.	Lösungsmittel.		Erhaltenes Guanin.	Minus.	Filtrat in cbcm.	Minus für 100 cbcm. Filtrat.
		Säure.	Wasser.				
I.	0,0782	1 gr. HCl[1])	75	0,072	0,0062	150	0,0041
II.	0,441	2 gr. H_2SO_4	150	0,432	6,009	250	0,0036
III.	0,2722	2 gr. HNO_3	50	0,27	0,0022	100	0,0022
IV.	0,1895	1 gr. HNO_3	100	0,184	0,0055	175	0,0031
V.	0,4065	6 gr. HCl	100	0,4	0,0065	200	0,0033
VI.	0,113	1 gr. HNO_3	100	0,105	0,008	200	0,004
VII.	0,119	2 gr. HNO_3	50	0,115	0,004	100	0,004
VIII.	0,0865	1 gr. HCl	100	0,0812	0,0053	150	0,0036
IX.	0,094	0,5 gr. HCl	75	0,089	0,005	150	0,0036
X.	0,061	2 gr. H_2SO_4	100	0,054	0,007	150	0,0047

Aus dieser Tabelle erhellt, dass die Fällbarkeit des Guanins durch Pikrinsäure, nicht durch die Menge der in

[1]) HCl. spec. Gew. 1,19; HNO_3 spec. Gew. 1,4.

angibt, bei Anwendung derselben zweierlei berücksichtigt werden. Erstens muss man das Adeninpikrat alsbald nach der Fällung abfiltriren, sodann darf die angewandte Lösung hinsichtlich ihres Gehaltes an Hypoxanthin nicht zu concentrirt sein.

Eine Trennung des Guanins vom Hypoxanthin durch Pikrinsäure ist also nach dem Gesagten nicht möglich.

Auf ein charakteristisches Verhalten des Adeninpikrates will ich an dieser Stelle noch aufmerksam machen. Während die Gegenwart anderer Salze nur von geringem Einfluss auf die Löslichkeit desselben zu sein scheint, löst sich dies mit Leichtigkeit in einer Lösung von Natriumphosphat. Aus einer solchen Lösung scheidet sich dasselbe jedoch auf Zusatz von Salzsäure wieder aus.

0,052 gr. Adenin wurden unter Zugabe von 3 Tropfen verdünnter Salzsäure in Wasser gelöst und der 100 gr. betragenden Flüssigkeitsmenge 2 gr. Natriumphosphat zugesetzt. Es zeigte sich, dass weder bei Zusatz von Pikrinsäure noch von Natriumpikrat ein Niederschlag erfolgte. Als nunmehr allmälig Salzsäure zugesetzt wurde, entstand eine im Verhältniss der Menge der zugesetzten Säure immer reichlicher werdende Abscheidung von Adeninpikrat. Ich erhielt schliesslich 0,129 Pikrat (bei 100° getrocknet), woraus sich 0,048 gr. Adenin berechnen, sodass also die Fällung unter Annahme der von Bruhns angegebenen Correcturzahl eine ziemlich normale war.

Da man bei der Isolirung der Nucleinbasen aus den Organen mit der Gegenwart von Phosphorsäure zu rechnen hat, und man die Pikrinsäure bezw. Natriumpikrat mit Vorliebe auch zum qualitativen Nachweis des Adenins benutzen wird, so darf diese Mittheilung nicht werthlos erscheinen.

Auch auf andere Adeninverbindungen wirkt, wie ich mich überzeugte, das Natriumphosphat lösend ein, so z. B. auf das Adeninmetaphosphat. Bemerkenswerth ist, dass auch die Harnsäure in reichlichen Mengen von Natriumphosphat gelöst wird.

Ueber die Anwendbarkeit der Metaphosphorsäure zur Trennung des Guanins vom Hypoxanthin und Adenin.

Dass es bei der grossen Aehnlichkeit der Nucleinbasen und ihrer Verbindungen mit grossen Schwierigkeiten verknüpft sein muss, eine genaue Trennungsmethode derselben ausfindig zu machen, kann nicht Wunder nehmen.

Eine im Ganzen bewährte Methode, das Xanthin von den drei übrigen Basen zu trennen, beruht auf dem verschiedenen Verhalten der Silberverbindungen derselben gegen Salpetersäure vom spec. Gew. 1,1. In der Siedehitze lösen sich hierin die Silberverbindungen aller vier Basen auf, beim Erkalten bleibt das Xanthinsilbernitrat gelöst, während die Doppelverbindungen der drei anderen Basen nahezu quantitativ ausfallen. Zersetzt man letztere Verbindungen mit verdünnter Salzsäure, so hat man ein Gemenge der drei Basen in saurer Lösung. Man fällte diese Lösung nun mit überschüssigem Ammoniak in der Siedehitze, um hierdurch das Guanin abzuscheiden. Im Filtrat konnte dann die Trennung des Adenins vom Hypoxanthin nach der Methode von Bruhns vorgenommen werden.

Ein Stein des Anstosses bei diesem Verfahren ist, dass das Guanin in Ammoniaklösung, zumal in der Wärme, in zu reichlicher Menge löslich ist.

Ich habe daher versucht, die Metaphosphorsäure an Stelle des Ammoniaks zur Trennung des Guanins vom Adenin und Hypoxanthin zu benutzen. Zunächst stellte ich Versuche an, wie vollkommen die Fällung des Guanins durch Metaphosphorsäure in schwach sauren Lösungen sei. Lösungen von Metaphosphorsäure bereitete ich für diesen Zweck durch allmäliges Eintragen von P_2O_5 in Wasser. Hiermit wurden die schwach sauren Lösungen mit einem bestimmten Gehalt an Guanin gefällt, nach 24 Stunden das abgeschiedene Metaphosphat abfiltrirt, mit kaltem Wasser ausgewaschen, mit dem Filter bei 110° getrocknet und gewogen. Aus der Menge des erhaltenen Metaphosphats wurde nach der Formel $C_5H_5N_5O\,HPO_3 + {}^1/_2 H_2O$ die Menge des wiedererhaltenen Guanins berechnet. In allen Fällen entstand im Filtrat durch

Zusatz von ammoniakalischer Silberlösung nur eine leichte flockige Ausscheidung.

Den Ausfall meiner Versuche veranschaulicht folgende Tabelle:

Angewandtes Guanin.	Wieder-erhaltenes Guanin.
0,1296	0,123
0,162	0,161
0,1303	0,123
0,135	0,1365
0,3343	0,326
0,47	0,475
0,1287	0,122
0,593	0,595
0,5415	0,536

Man kann aus diesen Versuchen entnehmen, dass es nicht möglich ist, auf diese Weise vollkommen genaue Resultate zu erzielen; auch scheint es nicht angängig, dieselben durch Anbringen einer Correcturzahl genauer zu gestalten. Dass die Resultate eine grössere Genauigkeit nicht ergeben, scheint einerseits darin zu liegen, dass ein unvollständiges Auswaschen des Metaphosphats — infolge seiner äusseren Beschaffenheit kann dasselbe nur mit Aufwendung von Zeit und Mühe völlig ausgewaschen werden — leicht ein etwas zu hohes Resultat liefern kann, andererseits scheint das dem bei 110° getrockneten Metaphosphat anhaftende Wasser nicht immer ein halbes Molekül zu betragen, sodass hierdurch ebenfalls die Genauigkeit des Resultates beeinträchtigt wird. Diesen nicht immer völlig constanten Wassergehalt der bei 110° getrockneten Verbindung habe ich mir in folgender Weise erklärt: Gehen überhaupt die Metaphosphate durch Kochen in wässerigen Lösungen allmälig in Orthophosphate über, so muss diese Neigung zur Hydratisirung bei dem Metaphosphat des Guanins, einer schwachen Base, besonders gross sein. Die Annahme dürfte daher gerechtfertigt erscheinen, dass das Guaninmetaphosphat, das vermuthlich als ein Salz $C_5H_5N_5O.HPO_3$ ausfällt, wenn nicht schon in der

Kälte beim Auswaschen mit Wasser, so doch beim Trocknen bei höherer Temperatur durch Einwirkung des mechanisch noch anhaftenden Wassers, zum Theil in Orthophosphat übergeht. Nach dieser Annahme würde also das Molekulargewicht des Phosphats zwischen 231 und 249 liegen können. Aus diesem Grunde habe ich auch die Formel der Verbindung an früherer Stelle[1]) absichtlich $C_5H_5N_5O$, $HPO_3 + xH_2O$ angegeben, wobei x jedoch in keinem Falle den Werth von 1 übersteigt.

Ist man somit auch nicht in der Lage, mit vollkommener Genauigkeit aus der Menge des erhaltenen Metaphosphats das Guanin berechnen zu können, so ist es doch von Wichtigkeit, dass das Guanin in der angegebenen Weise durch Metaphosphorsäure bis auf wenige Milligramm, welche gelöst bleiben, ausgefällt wird. Auf etwas umständlichere Weise wird man daher, wenn es sich neben einer qualitativen Abscheidung auch um eine quantitative Bestimmung handelt, genauere Resultate erzielen, wenn man das abgeschiedene Metaphosphat zu einer Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl verwendet, und aus dem so ermittelten Stickstoffgehalt die Menge des erhaltenen Guanins berechnet. Man verfährt dann, wie folgt: Man spült den auf dem Filter gesammelten Niederschlag, der in diesem Falle weniger vollkommen ausgewaschen zu werden braucht, mit Wasser in den Kolben, in dem die Zerstörung mit Schwefelsäure vorgenommen werden soll, kocht das Filter mit nicht zu verdünnter Schwefelsäure aus und bestimmt in den gemischten Flüssigkeiten den Stickstoffgehalt nach dem Kjeldahl'schen Verfahren. Ein so ausgeführter Versuch ergab folgendes Resultat: 0,156 gr. Guanin wurden in 100 cbcm. Wasser mit Hülfe einiger Tropfen Salzsäure gelöst und durch HPO_3 gefällt. Das abgeschiedene Metaphosphat, mit Schwefelsäure und Kaliumpermanganat zerstört, lieferte mit NaOH ein Destillat, das 50,5 cbcm. $^1/_{10}$ N-Oxalsäure zur Sättigung gebrauchte, woraus sich die Menge des wiedererhaltenen Guanins auf 0,1525 gr. berechnet.

---

[1]) S. 483.

Es musste weiter untersucht werden, ob die Fällung des Guanins durch Metaphosphorsäure nicht beeinflusst wird durch die Gegenwart von Adenin und Hypoxanthin, ob sich das Guanin also auf diesem Wege von diesen beiden Basen trennen lässt. Die Angabe von Kossel[1]), dass Adenin und Hypoxanthin durch Metaphosphorsäure nicht gefällt werden, machte dies wahrscheinlich. Gleichwohl gaben mit Guanin und Adenin angestellte Versuche zunächst ungenaue Resultate, indem das ausgefällte Metaphosphat zu hohe Werthe aufwies. Das Adenin wurde daher zunächst allein auf sein Verhalten zu Metaphosphorsäure geprüft. Hierbei zeigte sich nun, dass das Adenin aus neutralen und aus schwach sauren Lösungen durch Metaphosphorsäure ebenfalls, wenn auch weniger vollständig als das Guanin, gefällt wird, dass aber das ausgefällte Adeninmetaphosphat sich in einem grösseren Ueberschuss der Säure wieder löst. Näheres über das Adeninmetaphosphat findet sich im Anhang.[2])

Das Hypoxanthin dagegen gibt mit Metaphosphorsäure keine schwerlösliche Verbindung, sodass die Versuche, bei denen das Guanin bei Anwesenheit von Hypoxanthin ausgefällt wurde, normal verliefen. Ein Versuch zeigte sogar, dass man im Filtrat das Hypoxanthin direct nach Bruhns[3]) in Form von Hypoxanthinsilberpikrat bestimmen kann. 0,166 gr. Guanin und 0,148 Hypoxanthin gaben 0,259 Guaninmetaphosphat und 0,503 Hypoxanthinsilberpikrat, woraus sich 0,159 gr. Guanin und 0,145 gr. Hypoxanthin berechnen.

Gleichwohl wird sich die Bestimmung des Hypoxanthins in dieser Weise nicht empfehlen, da grössere Mengen überschüssiger Metaphosphorsäure im Filtrat leicht zu unrichtigen Resultaten führen können; vielmehr wird man, zumal auch das Adenin im Filtrate selbst durch Natriumpikrat sich nicht direct bestimmen lässt, zweckmässig zunächst das Filtrat mit ammoniakalischer Silberlösung ausfällen, die erhaltenen Silberverbindungen mit verdünnter Salzsäure zersetzen und in der

---

[1]) Centralbl. f. med. Wissensch., 1889, S. 418.

[2]) S. 506.

[3]) Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 555.

vom Chlorsilber abfiltrirten salzsauren Lösung das Adenin nach Bruhns vom Hypoxanthin trennen.

Die Trennung des Guanins vom Adenin durch Metaphosphorsäure verursacht, wie aus dem Gesagten hervorgeht, einige Schwierigkeiten, insofern bei ungenügendem Zusatz von Metaphosphorsäuren leicht ein Theil des Adeninmetaphosphats mit niedergeschlagen bleibt. Es erscheint daher zweckmässig, die Fällung der Basen in stark verdünnter Lösung vorzunehmen.

Kann die im Vorstehenden empfohlene Trennungsmethode der Nucleinbasen auf Vollkommenheit auch keinen Anspruch machen, so dürfte sie doch gegenüber der bisherigen Methode der Abscheidung des Guanins durch Ammoniak bedeutende Vortheile bieten. Da bei dieser stets ein grösserer Ueberschuss von Ammoniak angewendet werden musste, um das in Ammoniak ziemlich schwer lösliche Adenin in Lösung zu halten, andererseits aber die Löslichkeit des Guanins in Ammoniak, zumal in der Wärme, eine nicht unerhebliche ist, so konnte nach dieser Trennungsmethode kaum ein annähernd richtiges Resultat erzielt werden. Schon in der Kälte ist die Fällbarkeit des Guanins durch Ammoniak eine so unvollkommene, dass, wie meine Versuche ergaben, in je 100 cbcm. einer 1% Ammoniaklösung 0,009 gr., einer 3% Ammoniaklösung, 0,015 gr., einer 5% 0,019 gr. Guanin gelöst blieben. Die Löslichkeit des Guanins in heisser Ammoniaklösung ist natürlich eine relativ bedeutend grössere.

Anhang.

Hypoxanthin-Pikrat $C_5H_4N_4O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$.

Versetzt man eine Lösung von Hypoxanthin mit Pikrinsäure-Lösung oder eine saure Hypoxanthin-Lösung mit einer Lösung von Natriumpikrat, so scheiden sich je nach Concentration der angewandten Lösungen nach kürzerer oder längerer Zeit gelbe, glänzende Krystalle von pikrinsaurem Hypoxanthin aus. Die Krystalle haben die Form von Prismen, Lufttrocken erscheint das Pikrat als citronengelbes, glänzendes

Krystallpulver und besitzt die Zusammensetzung: $C_5H_4N_4O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$. Bei 100° verliert es leicht sein Krystallwasser, wodurch es zugleich den Glanz einbüsst.

Es löst sich leicht in heissem Wasser, schwer in kaltem. In Alkalien, auch in Ammoniak ist es leicht löslich.

Analyse:

0,212 gr., lufttrocken, verloren bei 100° 0.01 gr.
0,1195 gr. » » » » 0,0058 gr.
0,196 gr., bei 100° getrocknet, gaben 0,258 gr. CO_2 u. 0,0388 gr. H_2O.
0,1123 gr., bei 100° getrocknet, gaben 25,7 cbcm. N bei 17,3 T u. 762,5 B.

Berechnet für $C_5H_4N_4O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH$:		Gefunden:
C	36,16	35,87
H	1,92	2,2
N	26,85	26,6 %

Die Menge des gefundenen Krystallwassers berechnet sich aus den angeführten Zahlen auf 4,71 und 4,85 %, während die Formel $C_5H_4N_4O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$ 4,7 % Krystallwasser verlangt.

Adenin-Metaphosphat $C_5H_5N_5$, HPO_3.

Wässerige Adeninlösungen, sogar kalt gesättigte, geben auf Zusatz einiger Tropfen einer Lösung von Metaphosphorsäure eine Fällung von Adeninmetaphosphat. Da das Adenin in kaltem Wasser sehr schwer löslich ist, so resultirt hieraus, dass auch das Adenin-Metaphosphat gleich der entsprechenden Guaninverbindung eine in kaltem Wasser sehr schwer lösliche Verbindung ist. Das Adenin-Metaphosphat scheidet sich als ein amorpher Niederschlag ab, der, unter dem Mikroskop betrachtet, aus feinen runden Körnchen besteht oder eine äusserst feine membranöse Masse darstellt. Krystallisirt konnte die Verbindung nicht erhalten werden.

Sie löst sich leicht in Alkalien, auch in Ammoniak. In verdünnten Säuren löst sie sich je nach der Concentration der letzteren schon in der Kälte mehr oder weniger, auch in überschüssiger Metaphosphorsäure. Hieraus folgt, dass eine Adeninlösung, welche stark sauer und nicht sehr concentrirt ist, durch Metaphosphorsäure nicht gefällt wird, und ferner,

dass man in wässerigen, stark verdünnten Adeninlösungen keinen Niederschlag durch Metaphosphorsäure erhält, wenn man von vornherein einen Ueberschuss der letzteren zusetzt.

Wenn Kossel[1]) sagt, dass Adenin durch Metaphosphorsäure nicht gefällt werde, so ist dies darauf zurückzuführen, dass bei den von ihm in dieser Hinsicht angestellten Versuchen, welche ausschliesslich zur Prüfung der oben erwähnten[2]) Hypothese L. Liebermann's dienen sollten, die Fällungen unter den gleichen Bedingungen angestellt wurden, wie sie zur Darstellung des Nucleins dienen, nämlich bei saurer Reaction der Flüssigkeit.

Die Analyse des Adenin-Metaphosphats zeigte, dass demselben die Formel $C_5H_5N_5$, HPO_3 zukomme. Eine Anlagerung von Wasser findet sich hier also nicht. Allerdings will ich bemerken, dass ich bei der Darstellung, namentlich beim Trocknen des für die Analyse bestimmten Präparates Sorge getragen habe, dass die Möglichkeit der Hydratisirung der Verbindung, soweit als thunlich, ausgeschlossen war. Jedenfalls dürfte die Hydratisirung des Metaphosphats beim Adenin, einer starken Base, bedeutend schwerer erfolgen als bei dem schwach basischen Guanin, wenn sie überhaupt eintritt.

Analyse der bei 120° getrockneten Verbindung.

0,2134 gr. gaben nach der Methode Carius 0,1105 $Mg_2P_2O_7$.
0,2065 gr. gaben 0,213 gr. CO_2 und 0,06 H_2O.

	Berechnet für $C_5H_5N_5$, HPO_3:	Gefunden:
P	14,42	14,42
C	27,91	28,14
H	2,79	3,23

Adenin-Goldchlorid $C_5H_5N_5(HCl)_2AuCl_3 + H_2O$.

Setzt man zu einer salzsauren Adeninlösung eine Lösung von Goldchlorid, so scheiden sich bei genügender Concentration der Lösung alsbald, in verdünnteren Lösungen beim allmäligen Verdunsten derselben wohlausgebildete, glänzende, orangefarbige Krystalle ab.

[1]) Centralbl. f. med. Wissensch., 1889, S. 418.
[2]) S. 487.

Das im Folgenden näher beschriebene Doppelsalz wurde erhalten durch allmäliges Verdunsten einer stark verdünnten, überschüssige Salzsäure enthaltenden Lösung von Adenin und Goldchlorid. Einzelne der ausgeschiedenen Krystalle waren bis 1,2 ctm. lang. Die Analyse ergab für das Golddoppelsalz die Formel $C_5H_5N_5(HCl)_2\ AuCl_3 + H_2O$. Die Zusammensetzung dieses Salzes macht die Existenz eines salzsauren Adenins von der Formel $C_5H_5N_5(HCl)_2$ wahrscheinlich, zumal auch vom Guanin ein Hydrochlorat von der Formel $C_5H_5N_5O(HCl)_2$ bekannt ist.

U. U. kann das Goldsalz des Adenins zum qualitativen Nachweis der Base mit Vortheil benutzt werden, namentlich auch bei gleichzeitiger Gegenwart von Guanin, welches kein analoges Goldsalz bildet.[1])

Analyse des lufttrockenen Salzes:

0,2514 gr. wurden unter Zusatz von einigen Tropfen Salzsäure in Wasser gelöst, durch H_2S das Gold gefällt; das abfiltrirte und getrocknete Goldsulfid lieferte nach dem Glühen 0,0934 gr. Au.

0,2054 gr. lieferte nach dem Glühen 0,0765 gr. Au.

0,2582 gr. » » » » 0,096 gr. Au.

0,2946 gr. gaben 0,1244 gr. CO_2 u. 0,0514 gr. H_2O.

0,263 gr. gaben 0,111 gr. CO_2 u. 0,0443 gr. H_2O.

0,1715 gr. gaben 19 cbcm. N bei 777 B u. 14,4 T.

0,1818 gr. gaben nach dem Glühen mit Soda u. Salpeter, 0,249 AgCl.

	Berechnet für $C_5H_5N_5(HCl)_2AuCl_3 + H_2O$:	Gefunden:
Au	37,17	37,15 37,25 37,18
C	11,34	11,52 11,51
H	1,70	1,94 1,87
N	13,23	13,30
Cl	33,54	33,99

[1]) Auf die Wichtigkeit des Adenin-Goldsalzes für den Nachweis des Adenins wurde schon von Kossel aufmerksam gemacht. (Das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchungen von W. Behrens, A. Kossel und P. Schiefferdecker, I, S. 278. Dortselbst finden sich auch Abbildungen von Krystallen).

Herr Dr. Scheibe hatte die Güte, die Krystalle einer eingehenden krystallographischen Untersuchung zu unterwerfen. Genannter Herr, dem ich auch an dieser Stelle meinen Dank ausspreche, fasst das Resultat seiner Untersuchung im Folgenden zusammen:

«Die Krystalle sind in ihren Hauptausbildungen durch die folgenden drei Figuren dargestellt. Trotzdem sie glänzen, sind sie zu Messungen nicht gut geeignet, da m und z. Th. auch o quer gestreift sind, die anderen Flächen uneben erscheinen. Die Messungen können deshalb nur als annähernde gelten, wobei Differenzen bis zu $^1/_4{}^0$ vorkommen.

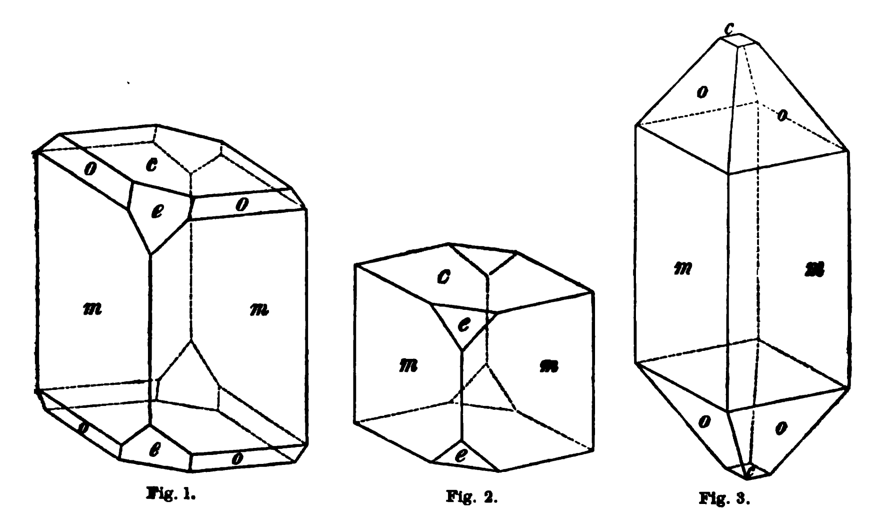


Fig. 1. Fig. 2. Fig. 3.

Es ist m : m = 90° rund. Die Vorderkante scheint manchmal 3—6′ über 90° zu sein, die Seitenkante so viel darunter. Da nun m : c = 90 ist, so erscheinen die Formen der Fig. 2 würfelig oder parallelopipedisch, zumal wenn e sehr klein ist und o ganz fehlt.

e : e über c misst	=	78° 56′
m : o	=	149° 53′
c : o	=	120° 7′.

Der ∢ m : o ist besonders bei Gestalten der Fig. 3 unter dem Mikroskop auf etwa 150° leicht zu controliren.

Wenn der $\sphericalangle$ m : m auffälligerweise = 90° scheint, so ist doch die Substanz nicht quadratisch, sondern rhombisch, wie Art der Combination und optische Verhältnisse beweisen.

Es ist c = ∞ a : ∞ b = 0P Basis,
m = a : b : ∞ c = ∞P Säule aufrecht,
e = a : ∞ b : c = P$\bar{\infty}$ Quersäule,
o = a : b : c = P Oktaeder.

Die Auslöschung auf den m-Flächen ist parallel den Kanten zu m und c.

Auf c ist die Auslöschung diagonal.

Ebene der optischen Axe ist die Basis c. Nächst oben genanntem Winkel m : o = 150° ist unter dem Mikroskop bei convergentem polarisirtem Lichte auf jeder Fläche der Säule m der Austritt einer optischen Axe zu beobachten. Dieselbe ist nach der Kante m : m zu geneigt, an der oben und unten e auftritt. Dabei zeigt sich lebhafte Dispersion. Der grüne Theil liegt nach eben bezeichneter Kante m : m (Fig. 4), der rothe Saum nach der anderen. Die Dispersion ist also v > ρ um Axe ǎ, die wohl erste Mittellinie ist.»

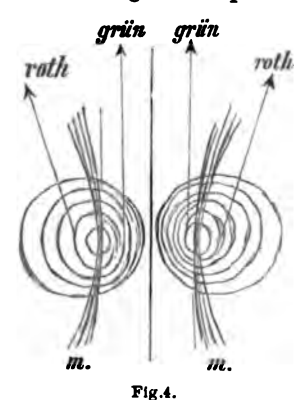


Fig. 4.

Die dieser Arbeit zu Grunde liegenden Experimentaluntersuchungen habe ich in der chemischen Abtheilung des physiologischen Institutes der Universität Berlin ausgeführt.

Herrn Professor Kossel spreche ich für die Anregung zu dieser Arbeit und die freundliche Unterstützung bei meinen Versuchen meinen wärmsten Dank aus.

Zur Frage der Aetherschwefelsäureausscheidung bei Cholerakranken.

Von

E. Baumann.

(Der Redaction zugegangen am 21. November 1892.)

Im letzten Hefte dieser Zeitschrift habe ich die Ansicht, dass bei Cholerakranken die normalen Fäulnissprocesse aus dem Darm verschwinden, geäussert[1]), auf Grund einer Mittheilung von Pouchet, welcher die Aetherschwefelsäureausscheidung (im Reactionsstadium) bis auf ein Minimum zurückgehen sah. Die oft gemachte Wahrnehmung, dass die sogenannten Reiswasserstühle nicht faulig riechen, sondern einen eigenthümlich faden Geruch zeigen, schien mir mit jener Annahme in gutem Einklange zu stehen.

Seit Abfassung jener Notiz liegen neue Erfahrungen von G. Hoppe-Seyler[2]) über die genannte Frage vor, nach welchen nicht eine Abnahme, sondern eine Vermehrung der Aetherschwefelsäureausscheidung bei Cholera stattfindet. Diese beruht nach G. Hoppe-Seyler auf der reichlichen Bildung von Indol durch die Kommabacillen. Dass in Reinkulturen der letzteren Indol entsteht, ist von Brieger[3]) u. A. schon früher gefunden worden. G. Hoppe-Seyler citirt auch eine mir früher nicht bekannt gewordene Mittheilung von Wyss, in welcher gesagt wird, dass der erste nach dem

---

[1]) Diese Zeitschr., Bd. 17, S. 403.

[2]) Berl. Klin. Wochenschr. 1892, S. 43.

[3]) D. med. Wochenschr. 1887, S. 469.

Choleraanfall gelassene Urin sich durch einen ganz ausserordentlichen grossen Gehalt von Indican auszeichnet.

Nach einer freundlichen Mittheilung, welche ich Herrn Prof. F. Hoppe-Seyler verdanke, war die Reaction, durch welche das Indol jetzt gewöhnlich nachgewiesen wird — Rothfärbung auf Zusatz von concentr. Salpetersäure — schon vor 40 Jahren (also lange vor der Entdeckung des Indols) allgemein bekannt und ist auch schon damals an den Cholerastühlen beobachtet worden[1]).

Wenn mit den genannten Erfahrungen älteren und neueren Datums die Beobachtungen von Pouchet in Einklang zu bringen sind, so kann das wohl nur geschehen, wenn man annimmt, dass der von Pouchet untersuchte Harn einer Zeit entsprach, in welcher eine Resorption vom Darm aus wenig oder gar nicht stattfand. In jedem Falle ist nach dem Vorstehenden das von Pouchet beobachtete Zurückgehen der Aetherschwefelsäure im Reactionsstadium nicht direct in Beziehung zu bringen mit dem von Schmitz[2]) gefundenen Verschwinden der Aetherschwefelsäuren aus dem Harn, nachdem reichliche Mengen von frischem Käse in der Nahrung aufgenommen worden sind.

Freiburg i. B., 20. November 1892.

---

[1]) L. Güterbock, Bericht über die Cholera-Epidemie in Berlin während des Jahres 1852 (Abdruck aus Göschens Deutscher Klinik 1853) S. 26. Die Reaction selbst ist von Güterbock auf eine Veränderung des Gallenfarbstoffs bezogen worden.

[2]) Diese Zeitschr., Bd. 17, S. 402.

Ueber die Constitution des Leucins.

Von

E. Schulze und **A. Likiernik**[1]).

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 30. November 1892.)

Während für die meisten der beim Eiweisszerfall entstehenden Amidosäuren, nämlich für die Asparaginsäure, die Glutaminsäure, das Tyrosin und die Phenylamidopropionsäure[2]) die Frage der Constitution längst endgültig entschieden ist, gilt nicht das Gleiche für das Leucin. Man weiss freilich seit langer Zeit, dass dasselbe als eine Amidocapronsäure anzusehen ist — und zwar auf Grund einer von G. Hüfner[3]) im Jahre 1868 publicirten Untersuchung, nach welcher Leucin beim Erhitzen mit Jodwasserstoffsäure im zugeschmolzenen Rohr als Spaltungsproducte Capronsäure und Ammoniak liefert; was für eine Capron-

---

[1]) Berichterstatter: E. Schulze. Es ist hier zu erwähnen, dass bei Ausführung eines Theils unserer Versuche Herr S. Frankfurt uns Hülfe geleistet hat, wofür wir ihm an dieser Stelle unseren Dank aussprechen.

[2]) Dass die beim Eiweisszerfall entstehende Phenylamidopropionsäure eine optisch active Modification des von Erlenmeyer und Lipp (Ann. d. Chem., Bd. 219, S. 194) synthetisch dargestellten Phenylalanins (Phenyl-α-Amidopropionsäure) ist, wird insbesondere durch die von E. Schulze und E. Nägeli (diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 201) ausgeführten Versuche bewiesen.

[3]) Zeitschrift für Chemie, 1868, S. 391.

säure dabei entsteht, vermochte Hüfner aber nicht festzustellen[1]), da er die Säure nur in geringer Quantität erhielt. Er suchte daher die Frage nach der Constitution des Leucins dadurch einer Lösung näher zu bringen[2]), dass er zwei synthetisch dargestellte Amidocapronsäuren, von denen die eine aus dem Monobromsubstitutionsproduct der Gährungscapronsäure und Ammoniak, die zweite aus Isovaleraldehyd-Ammoniak und Blausäure erhalten war, mit Leucin verglich. Er fand dieselben im Aussehen dem letzteren sehr ähnlich; der Sublimationspunkt war bei allen drei Substanzen fast der gleiche; auch in der Beschaffenheit ihrer Salpetersäure- und Kupfer-Verbindungen liessen sich Unterschiede nicht herausfinden. Dagegen zeigten sich Verschiedenheiten in der Löslichkeit. Am schwersten löslich war die aus Isovaleraldehyd dargestellte Amidosäure, welche als α-Amidoisobutylessigsäure zu bezeichnen ist; 1 Th. derselben bedurfte bei 12° 117,5 Th. Wasser zur Lösung. Das Leucin und die aus Gährungscapronsäure dargestellte Amidosäure zeigten dagegen bei 20° eine Löslichkeit von 1 : 25 bis 1 : 26[3]).

Auf Grund unserer gegenwärtigen Kenntnisse muss es aber für sehr wahrscheinlich erklärt werden, dass die Versuche Hüfner's eine Entscheidung der obigen Frage gar nicht bringen konnten. Denn J. Mauthner[4]) hat im Jahre 1883 nachgewiesen, dass Leucin Circumpolarisation zeigt, während jene beiden synthetisch dargestellten Amidocapronsäuren optisch inactiv sind. Das von Mauthner verwendete Leucin-Präparat, welches aus Casein dargestellt war, erwies sich sowohl in salzsaurer als in alkalischer Lösung als rechts-

[1]) Dagegen ist vor Kurzem über die Natur dieser Capronsäure von A. Kwisda (Monatshefte für Chemie, Bd. 12, S, 423—425) eine Mittheilung gemacht worden. Auf dieselbe kommen wir w. u. noch zurück.

[2]) Journal f. prakt. Chemie, N. F., Bd. 1, S. 6.

[3]) D. h.: 1 Th. bedurfte 25—26 Th. Wasser zur Lösung (der Kürze halber wählen wir hier und hin und wieder auch später die obige Ausdrucksweise). An einer anderen Stelle seiner Abhandlung giebt Hüfner übrigens auch an, dass 1 Th. der aus Gährungscapronsäure dargestellten Amidosäure bei 12° 48,8 Th. Wasser zur Lösung bedurfte.

[4]) Diese Zeitschrift, Bd. 7, S. 222.

drehend; später zeigte Lewkowitsch[1]) unter Benutzung eines aus pflanzlichem Eiweiss dargestellten Leucin-Präparates, dass diese Amidosäure in wässeriger Lösung linksdrehend ist, was von Mauthner später auch für das aus Casein dargestellte Leucin bestätigt worden ist. Wenn nun auch über das optische Verhalten des von Hüfner verwendeten Leucin-Präparats eine Angabe nicht vorliegt, so muss es doch im Hinblick auf die von Mauthner und Lewkowitsch gemachten Beobachtungen, sowie auf die Resultate der von uns an Leucin-Präparaten verschiedener Herkunft ausgeführten Versuche (vgl. w. u.) für sehr wahrscheinlich erklärt werden, dass dasselbe gleichfalls optisch activ war. Active Körper können aber von ihren inactiven Modificationen ausser im optischen Verhalten auch noch in anderen Punkten differiren. Um also auf dem von Hüfner eingeschlagenen Wege zu einem sicheren Resultate zu gelangen, muss man, wie man jetzt voraussagen kann, die synthetisch dargestellten Amidosäuren mit inactivem Leucin vergleichen. Das letztere lässt sich nach den Untersuchungen, welche der Eine von uns in Verbindung mit J. Barbieri und E. Bosshard[2]) ausgeführt hat, durch Spaltung von Eiweissstoffen mittelst Barytwassers bei 160° erhalten; man kann es aber auch darstellen, indem man das gewöhnliche active Leucin mit Barytwasser auf die gleiche Temperatur erhitzt[3]).

Es schien angezeigt, in dieser Richtung einige Versuche auszuführen.

Wenn eine jener beiden synthetisch dargestellten Amidocapronsäuren die Structur des Leucins besitzt, so muss sie erstens die gleiche Löslichkeit zeigen, wie das letztere; zweitens muss sie bei Einwirkung von Penicillium glaucum eine active Isomere liefern, welche mit dem in gleicher Weise von E. Schulze und E. Bosshard[4]) aus dem inactiven Leucin dargestellten Product in den Eigenschaften überein-

---

[1]) Berichte d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 17, S. 1430.
[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 108.
[3]) Ebendaselbst, Bd. 10, S. 135.
[4]) Ebendaselbst, Bd. 10, S. 138.

stimmt; drittens endlich muss aus ihr bei Einwirkung von salpetriger Säure die gleiche Oxycapronsäure entstehen, wie aus dem inactiven Leucin.

In allen diesen Punkten stimmte nun in der That die α-Amidoisobutylessigsäure mit dem aus einem pflanzlichen Eiweissstoff (Conglutin) dargestellten inactiven Leucin überein, während zwischen dem letzteren und der aus Gährungscapronsäure dargestellten α-Amidosäure sich Unterschiede herausfinden liessen.

Im Folgenden geben wir eine ausführliche Beschreibung der Versuche, welche zu diesen Resultaten führten, nachdem eine kurze Mittheilung über dieselben früher schon in den Berichten der Deutschen Chemischen Gesellschaft, Bd. **24**, S. 669, von uns gemacht worden ist.

Darstellung von α-Amidoisobutylessigsäure und Vergleichung derselben mit inactivem Leucin.

Die Darstellung der α-Amidoisobutylessigsäure aus Isovaleraldehyd-Ammoniak und Blausäure ist bekanntlich zuerst von Limpricht[1]) ausgeführt worden. Hüfner (loc. cit.) hat das Verfahren modificirt. Wir befolgten im Wesentlichen Hüfner's Vorschrift und verfuhren folgendermassen: Gereinigter Isovaleraldehyd[2]) wurde zur Ueberführung in die Ammoniak-Verbindung mit einer gesättigten Lösung von Ammoniak in Alkohol geschüttelt. Das Anfangs ölige Product verwandelte sich nach einiger Zeit in einen Krystallbrei. Die Krystalle wurden abfiltrirt, auf einer Thonplatte getrocknet und sodann mit der halben Gewichtsmenge wässeriger Blausäure zusammengebracht. Das Gemisch liessen wir 12 Stunden stehen. Es resultirte eine ölige gelbe Flüssigkeit, in welcher das Nitril der α-Amidoisobutylessigsäure sich in Lösung befand. Dieser Flüssigkeit wurde Salzsäure zugesetzt. Es entstand ein klumpiger Niederschlag, welcher beim Kochen mit

---

[1]) Ann. Chem. Pharm., Bd. 94, S. 243.

[2]) Erhalten durch Rectification von käuflichem Isovaleraldehyd (das bei 92—93° Uebergehende wurde für sich aufgefangen).

überschüssiger Salzsäure nach und nach in Lösung ging; doch blieben an der Oberfläche der Flüssigkeit dunkle ölige Tropfen, welche auch bei sehr langem Kochen mit Salzsäure nicht verschwanden. Wir beseitigten dieselben durch Filtration. Das Filtrat wurde unter öfterem H_2O-Zusatz im Wasserbade eingedampft, um die Salzsäure so weit als möglich zu verjagen; zur völligen Entchlorung behandelten wir die Flüssigkeit sodann mit Bleioxydhydrat und schliesslich noch mit Silberoxyd. Aus der mittelst Schwefelwasserstoffs vom gelösten Blei und Silber befreiten Lösung krystallisirte beim Eindunsten die α-Amidoisobutylessigsäure aus. Sie wurde durch Umkrystallisiren aus Weingeist, welchem etwas Ammoniakflüssigkeit zugesetzt war, gereinigt.

Die in dieser Weise dargestellte optisch unwirksame Amidosäure war im Aussehen dem inactiven Leucin täuschend ähnlich. Um ihre Löslichkeit in Wasser zu bestimmen, wurde ein Quantum der Krystalle mit einer zur völligen Lösung unzureichenden Wassermenge unter häufigem Umschütteln 1—2 Tage lang bei gewöhnlicher Temperatur in Berührung gelassen. Von der filtrirten Lösung wurde ein Theil in einem kleinen, mit Stöpsel versehenen Glasgefäss abgewogen und sodann in einem gewogenen Platinschälchen im Wasserbade eingedunstet, der Rückstand bei 100—105° getrocknet und gewogen (in der gleichen Weise sind alle später aufgeführten Löslichkeitsbestimmungen gemacht worden). Wir erhielten folgendes Resultat: 11,8624 gr. Lösung, dargestellt bei 15°, lieferten 0,1110 gr. Rückstand. 1 Th. Substanz hatte also bei 15° 105,9 Th. Wasser zur Lösung bedurft.

Hüfner (l. c.) fand für die gleiche Amidosäure eine Löslichkeit von 1 : 117,5 bei 12°. Die nicht sehr beträchtliche Differenz erklärt sich theilweise wohl schon daraus, dass Hüfner die Lösung bei einem etwas geringeren Wärmegrad hergestellt hat; unter diesen Umständen ist auf dieselbe kein grosses Gewicht zu legen. Denn der Eine von uns[1]) hat gezeigt, dass sehr geringe Verunreinigungen die Löslichkeit

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 254.

der Leucin-Präparate stark beeinflussen können[1]. Gesetzt also, dass Hüfner's Präparat ein wenig reiner war, als das unsrige, so erklärt es sich, dass es etwas schwerer in Wasser löslich war.

Die für die α-Amidoisobutylessigsäure von uns beobachtete Löslichkeit liegt derjenigen sehr nahe, welche für das aus Conglutin dargestellte inactive Leucin gefunden wurde. Für ein wiederholt umkrystallisirtes Präparat des letzteren wurde bei völlig gleichem Verfahren von E. Schulze[2]) eine Löslichkeit von 1 : 106,5 bei Zimmertemperatur, für ein anderes von E. Schulze und E. Bosshard[3]) eine Löslichkeit von 1 : 102,4 bei 21° gefunden. Die Differenzen dieser Zahlen von einander und von dem für die α-Amidoisobutylessigsäure von uns erhaltenen Resultat liegen ohne Zweifel innerhalb der Fehlergrenze der Bestimmungen. Es darf also behauptet werden, dass die genannte Amidosäure die gleiche Löslichkeit in Wasser besitzt, wie das inactive Leucin.

Ueberführung der α-Amidoisobutylessigsäure in eine active Modification mit Hülfe von Penicillium glaucum und Vergleichung derselben mit dem in gleicher Weise aus dem inactiven Leucin erhaltenen Product.

Die Behandlung der α-Amidoisobutylessigsäure mit Penicillium glaucum führten wir nach der auch von E. Schulze und E. Bosshard in der früher erwähnten Untersuchung befolgten Vorschrift aus. Die stark verdünnte wässerige Lösung der genannten Amidosäure wurde, nachdem ihr die für die Entwickelung des Pilzes erforderlichen anorganischen Nährsalze[4]) und etwas freie Phosphorsäure zugefügt worden

[1]) Doch lässt sich nicht behaupten, dass eine jede Verunreinigung diese Wirkung in starkem Maasse ausübt; vorzugsweise scheint sie anderen Amidosäuren zuzukommen.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 111.

[3]) Ebendaselbst, Bd. 10, S. 136.

[4]) Wir setzten das auch von E. Schulze und E. Bosshard (loc. cit.) verwendete Salzgemisch zu, jedoch mit Weglassung des Chlorammoniums.

waren, in einen zuvor sterilisirten und mit Baumwollpfropfen versehenen Glaskolben gebracht und in demselben wiederholt (an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen) zum Sieden erhitzt, um alle vorhandenen Keime zu tödten. Sodann wurde etwas Penicillium glaucum eingesäet, dessen Besitz wir der Gefälligkeit des Herrn Dr. von Tavel, Assistenten am botanischen Institut unseres Polytechnikums, verdankten. Nach ungefähr 14 Tagen hatte sich eine ziemlich dichte Pilzdecke auf der Flüssigkeit gebildet. Nach Verlauf von ungefähr 10 Wochen wurde der Pilz durch Filtration entfernt, das Filtrat mit Barytwasser neutralisirt und nach nochmaliger Filtration zur Trockne verdunstet. Den Verdampfungsrückstand extrahirten wir in der Wärme mit absolutem Alkohol, welchem etwas concentrirte Ammoniakflüssigkeit zugefügt war. Wir wendeten dieses Extractionsmittel zunächst nur in solcher Menge an, dass die noch vorhandene Amidosäure nicht vollständig in Lösung gehen konnte; der Rest wurde sodann durch Behandlung mit einer neuen Quantität des Extractionsmittels in Lösung gebracht. Die Lösungen lieferten nach dem Erkalten bald Krystalle. So erhielten wir zwei aus glänzenden Blättern bestehende Krystallisationen. Die Untersuchung derselben im Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat lieferte folgende Resultate:

I. Fraction der Krystalle: Eine Lösung in 20procentiger Salzsäure, welche in 20 cbcm. 0,874 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte bei 17° C. im 200 mm.-Rohr 4,4° nach links. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = -17,4°$.

II. Fraction der Krystalle: Eine ebenso bereitete Lösung, welche in 20 cbcm. 0,6813 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte unter gleichen Bedingungen 3,6° nach links. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = -14,4°$.

Die erste Fraction der Krystalle zeigte das gleiche Drehungsvermögen wie die von E. Schulze und E. Bosshard bei Einwirkung von Penicillium glaucum auf inactives Leucin erhaltene active Modification; denn für zwei Präparate der letzteren wurde $[\alpha]_D = -17,3°$ bezw. $-17,5°$ gefunden; sie drehte ferner in salzsaurer Lösung ebensoviel nach links, wie das gewöhnliche active Leucin unter den gleichen Ver-

suchsbedingungen nach rechts dreht. Die zweite Fraction der Krystalle besass ein etwas schwächeres Drehungsvermögen. Man darf wohl annehmen, dass derselben noch etwas vom inactiven Product beigemengt war. Das Gleiche wurde in den Versuchen von E. Schulze und E. Bosshard beobachtet; es wurden in zwei Fällen Präparate erhalten, deren Drehungsvermögen darauf hinwies, dass ihnen noch inactives Leucin beigemengt war. Letzteres wurde für das eine dieser Präparate direct bewiesen, indem man es noch einmal mit Penicillium zusammenbrachte; sein Drehungsvermögen vergrösserte sich in Folge dessen bis auf den oben angegebenen Betrag.

Es sei noch darauf aufmerksam gemacht, dass die schwächer drehende zweite Fraction unserer Krystalle nach der Art ihrer Gewinnung den schwerer löslichen Theil des Products einschliessen musste.

In einem zweiten, mit der α-Amidoisobutylessigsäure angestellten Versuch, in welchem wir die Lösung der letzteren noch länger als im ersten Versuch mit Penicillium glaucum in Berührung liessen, erhielten wir bei übrigens ganz gleichem Verfahren eine active Modification, welche bei der Untersuchung im Polarisationsapparat folgendes Resultat gab: Eine Lösung in 20procentiger Salzsäure, welche in 10 cbcm. 0,4929 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr 4,85° S.-V. nach links. Daraus berechnet sich $[\alpha[_D = -17{,}0°$.

Die in der beschriebenen Weise erhaltene active Modification der α-Amidoisobutylessigsäure zeigte auch eine Löslichkeit, welche derjenigen des aus dem inactiven Leucin durch Einwirkung von Penicillium entstandenen activen Products sehr nahe lag und bedeutend grösser war, als die Löslichkeit der inactiven Modification; 1 Theil derselben, und zwar von der ersten der beiden oben erwähnten Krystallfractionen, bedurfte nämlich bei 13° 41 Th. Wasser zur Lösung (8,9300 gr. Lösung lieferten 0,2148 gr. Rückstand), während E. Schulze und E. Bosshard für jene aus dem inactiven Leucin erhaltene active Modification eine Löslichkeit von 1 : 43 bei 18° fanden — eine Löslichkeit, welche auch mit derjenigen des gewöhnlichen activen Leucins übereinstimmt (vgl. w. u.).

Die α-Amidoisobutylessigsäure liefert also bei der Behandlung mit Penicillium glaucum ein actives Product, welches in den Eigenschaften mit der in gleicher Weise aus dem inactiven Leucin erhaltenen activen Modification übereinstimmt und in salzsaurer Lösung ebensoviel nach links dreht, wie das gewöhnliche active Leucin unter den gleichen Versuchsbedingungen nach rechts.

Darstellung einer Oxysäure aus der α-Amidoisobutylessigsäure und aus dem inactiven Leucin.

Zur Ueberführung in die Oxysäure brachten wir die α-Amidoisobutylessigsäure in wässeriger Lösung mit der berechneten Menge von Schwefelsäure und Natriumnitrit zusammen. Nachdem die Reaction sich vollendet hatte, wurde die Flüssigkeit eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit Aether behandelt. Die ätherische Lösung wurde verdunstet, der Rückstand in Wasser aufgenommen, die Lösung mit Kupferacetat versetzt. Es entstand ein hellblauer krystallinischer Niederschlag, welcher abfiltrirt, mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen und sodann durch Schwefelwasserstoff zersetzt wurde. Aus der vom Schwefelkupfer abfiltrirten Lösung der freien Oxysäure gewannen wir die letztere durch Ausschütteln mit Aether, führten sie zur Reinigung noch einmal in das Kupfersalz über, schüttelten sie aus der bei Zerlegung des letzteren erhaltenen Flüssigkeit wieder mit Aether aus und brachten sie sodann zur Krystallisation. Die Krystalle schmolzen im Kapillarröhrchen bei 50°.

Genau in der gleichen Weise wurde aus dem inactiven Leucin eine Oxysäure dargestellt. Eine Probe derselben schmolz bei 50°, eine andere noch besser gereinigt bei 52°.

Man darf also sagen, dass die aus der α-Amidoisobutylessigsäure und aus dem inactiven Leucin dargestellten Oxysäuren den gleichen Schmelzpunkt besassen. Dieselben zeigten auch das gleiche Aussehen. Dies gilt auch für die in der oben beschriebenen Weise erhaltenen Kupfersalze der beiden Säuren.

Wir haben auch noch die Zinksalze der Säuren dargestellt, indem wir die wässerigen Lösungen der letzteren mit einer Zinkacetat-Lösung versetzten, worauf sofort die Zinksalze sich ausschieden. Dieselben besassen das gleiche Aussehen und die gleiche Löslichkeit in Wasser. Letzteres geht aus folgenden Angaben hervor:

a) 100 Th. Wasser lösten bei Zimmertemperatur 0,115 Th. vom Zinksalz der aus der α-Amidoisobutylessigsäure dargestellten Oxysäure.

b) 100 Th. Wasser lösten vom Zinksalz der aus dem inactiven Leucin dargestellten Oxysäure 0,107 Th.

Die in Bezug auf die Löslichkeit beobachteten Differenzen dürfen als unwesentlich angesehen werden.

Die bei Einwirkung von salpetriger Säure auf das inactive Leucin entstandene Oxysäure ist demnach identisch mit derjenigen, welche die α-Amidoisobutylessigsäure bei gleicher Behandlung lieferte. Mit letzterer muss nach der Art ihrer Darstellung auch die Oxycapronsäure (Leucinsäure) identisch sein, welche von Erlenmeyer und Sigl[1]) durch Behandlung des aus Isovaleraldehyd und Blausäure entstehenden Nitrils mit rauchender Salzsäure dargestellt und später auch von Ley[2]) und von Guthzeit[3]) untersucht worden ist. Doch wird für diese Säure ein Schmelzpunkt von 54—56° angegeben, während unsere Säure bei 50—52° schmolz. Die Ursache für diese Differenz liegt ohne Zweifel darin, dass die von uns dargestellte Säure nicht völlig rein war. Beim Wiederauflösen derselben in Wasser blieben, freilich nur in sehr geringer Menge, kleine syrupöse Flüssigkeits-Tröpfchen zurück. Vielleicht hatte sich beim Eindunsten der Säure-Lösung eine geringe Quantität eines Anhydrids[4]) oder eines Esters[5]) ge-

---

[1]) Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 7, S. 1109.

[2]) Ebendaselbst, Bd. 10, S. 231.

[3]) Ann. d. Chem., Bd. 209, S. 240.

[4]) Es wird angegeben, dass die Oxycapronsäure schon bei längerem Erhitzen auf 100° in Anhydride, welche in Wasser unlöslich sind, übergehen (vgl. Beilstein's Handbuch der organischen Chemie, 2. Auflage, Bd. 1, S. 523).

[5]) Ein Ester konnte sich bilden, falls der zum Ausschütteln der Säure verwendete Aether nicht frei von Alkohol war.

bildet. Wir stellten daher aus inactivem Leucin eine neue Quantität der Oxysäure dar und reinigten dieselbe in der oben beschriebenen Weise; zum Ausschütteln der Säure aus der wässerigen Flüssigkeit verwendeten wir aber in diesem Falle reinen, über Natrium rectificirten Aether; ferner liessen wir die nach dem Verdunsten des Aethers zurückbleibende wässerige Säure-Lösung nicht in der Wärme, sondern bei gewöhnlicher Temperatur über concentrirter Schwefelsäure eindunsten. Die so erhaltene Oxysäure, welche sich ohne Rückstand in Wasser löste, schmolz bei 54,5°, nachdem sie zuvor aus Wasser umkrystallisirt worden war; ihr Schmelzpunkt stimmte nun also mit demjenigen der von Erlenmeyer und Sigl entdeckten Säure überein. Auch besitzt das Zinksalz dieser Säure nach den darüber vorliegenden Angaben nahezu die gleiche Löslichkeit in Wasser, wie sie für das Zinksalz unserer Säure gefunden wurde.

Es ist hier noch darauf aufmerksam zu machen, dass die im Vorigen beschriebene Oxysäure verschieden von der Leucinsäure ist, welche man bei Einwirkung von salpetriger Säure auf das gewöhnliche active Leucin erhält. Wir haben uns diese Säure aus gewöhnlichem Leucin, erhalten durch Zersetzung von Conglutin mittelst Salzsäure, selbst dargestellt und fanden sie, wie zu erwarten war, optisch activ. Ihr Schmelzpunkt lag bei 73°. Den gleichen Schmelzpunkt gibt Waage[1]) für die von ihm untersuchte Leucinsäure an, für deren Darstellung ein aus Hornspänen gewonnenes Leucinpräparat gedient hatte.

Vergleichung der aus Gährungscapronsäure dargestellten α-Amidosäure mit Leucin.

Bei Darstellung dieser Amidosäure verfuhren wir in folgender Weise: Der bei fractionirter Destillation zwischen 199 und 204° übergegangene Theil käuflicher Gährungscapronsäure wurde im zugeschmolzenen Glasrohr mit Brom[2])

---

[1]) Ann. d. Chem., Bd. 118, S. 295.

[2]) 80 Th. Brom auf 131 Th. Capronsäure.

erhitzt, das so erhaltene Bromsubstitutionsproduct von der bei der Reaction entstandenen Bromwasserstoffsäure befreit und sodann mit concentrirter wässeriger Ammoniakflüssigkeit im zugeschmolzenen Rohr ca. 6 Stunden lang auf 120° erhitzt. Der Rohrinhalt lieferte beim Erkalten eine reichliche Ausscheidung blättriger Krystalle. Dieselben wurden auf ein Filter gebracht, mit etwas kaltem Wasser gewaschen und sodann behufs völliger Entfernung der Mutterlauge auf eine Thonplatte aufgestrichen. Wir lösten sie nun in heissem Wasser und fügten der Lösung Kupferacetat zu. Es schied sich sofort eine krystallinische Kupferverbindung aus, welche abfiltrirt, mit kaltem Wasser gewaschen und hierauf mittelst Schwefelwasserstoffs zerlegt wurde. Die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Flüssigkeit wurde zur Krystallisation gebracht. Wir erhielten so eine in glänzenden Blättern krystallisirende, im Aussehen dem Leucin sehr ähnliche Amidosäure. Dieselbe war optisch inactiv. Eine Löslichkeitsbestimmung gab folgendes Resultat: 18,6148 gr. einer gesättigten wässerigen Lösung (dargestellt bei 16°) gaben 0,2312 gr. Rückstand. Demnach bedurfte 1 Th. der Amidosäure 79,5 Th. Wasser von 16° zur Lösung.

Wir stellten aus dieser Amidosäure nun eine active Modification dar, indem wir sie in wässeriger Lösung unter den w. oben beschriebenen Versuchsbedingungen der Einwirkung von Penicillium glaucum aussetzten. Nachdem der Versuch 12 Wochen lang gedauert hatte, wurde der Pilz durch Filtration entfernt, das Filtrat in der gleichen Weise wie früher (vgl. S. 519) verarbeitet, die dabei erhaltene Amidosäure aus Weingeist, welchem etwas Ammoniakflüssigkeit zugefügt war, umkrystallisirt. Wir erhielten so ein aus glänzenden Krystallblättern bestehendes Präparat. Die Untersuchung im Polarisationsapparat gab folgendes Resultat: Eine Lösung in 20procentiger Salzsäure, welche in 10 cbcm. 0,463 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei 17° C. 6,95° S.-V. nach links. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = -26,0°$.

Eine Löslichkeitsbestimmung gab folgendes Resultat: 8,000 gr. einer bei 18° dargestellten wässerigen Lösung gaben

0,125 gr. Rückstand. Demnach bedurfte 1 Th. der Amidosäure 63,0 Th. Wasser von 18° zur Lösung.

Ein zweiter Versuch, in welchem wir die Einwirkung des Pilzes auf die Amidosäure noch 2 Wochen länger dauern liessen, lieferte ein Product von gleichen Eigenschaften. Eine Lösung desselben in 20 procentiger Salzsäure, welche in 10 cbcm. 0,508 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei 17° C. 7,8° S.-V nach links. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = -26{,}5°$.

Eine Löslichkeitsbestimmung gab folgendes Resultat: 7,045 gr. einer bei 19° dargestellten wässerigen Lösung gaben 0,115 gr. Rückstand. Die Löslichkeit war also = 1 : 60,3.

Dass die in solcher Weise erhaltene active Substanz die Zusammensetzung einer Amidocapronsäure besass, wurde durch die bei der Elementaranalyse erhaltenen Zahlen bewiesen: 0,1596 gr. Substanz lieferten 0,3214 gr. CO_2 und 0,1460 gr. H_2O.

	Berechnet für $C_6H_{13}NO_2$:	Gefunden:
C	54,96	54,92 %
H	9,92	10,16 %
N	10,69	—
O	24,43	—

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse darf behauptet werden, dass die aus Gährungscapronsäure von uns dargestellte Amidosäure verschieden vom Leucin ist. Denn dieselbe zeigte eine grössere Löslichkeit in Wasser als das inactive Leucin und lieferte bei der Spaltung durch Penicillium glaucum ein actives Product, welches von der in gleicher Weise aus dem inactiven Leucin dargestellten activen Modification sich durch weit stärkeres Drehungsvermögen und durch geringere Löslichkeit in Wasser unterschied.

Da nun nach allgemeiner Annahme[1]) die Gährungscapronsäure normale Capronsäure ist, so würden die von uns erhaltenen Versuchsergebnisse auch als ein Beweis dafür

[1]) M. vgl. z. B. Beilstein's Handbuch der organischen Chemie, 2. Auflage, S. 406.

angesehen werden können, dass die normale α-Amidocapronsäure verschieden von dem von uns aus Conglutin dargestellten Leucin ist.

Gegen diese Schlussfolgerungen lässt sich jedoch noch ein, freilich wohl nicht sehr schwerwiegender, Einwand erheben. Wie aus dem oben Mitgetheilten zu ersehen ist, haben wir als Material für die Darstellung der besprochenen Amidosäure den zwischen 199 und 204° überdestillirenden Theil der Gährungscapronsäure verwendet. Dass derselbe nicht aus völlig reiner Capronsäure bestand, war von vornherein kaum zweifelhaft und liess sich auch leicht beweisen[1]). Trotzdem konnte die daraus dargestellte Amidosäure, welche nicht nur durch Krystallisation, sondern auch durch Ueberführung in die Kupferverbindung gereinigt wurde, eine ganz reine, einheitliche Substanz sein — wofür auch das Resultat der oben aufgeführten Elementaranalyse zu sprechen scheint. Immerhin aber muss zugegeben werden, dass die von uns mitgetheilten Versuchsergebnisse noch beweiskräftiger sein würden, wenn für die Darstellung der Amidosäure reine Capronsäure verwendet worden wäre.

Wir führten daher einen neuen Versuch in folgender Weise aus: Gährungscapronsäure wurde der fractionirten Destillation unterworfen, der zwischen 199 und 204° übergehende Theil für sich aufgefangen. Wir führten letzteren dann in das Kalksalz über und brachten dasselbe zur Krystallisation. Wir erhielten ein aus glänzenden Krystallblättern bestehendes Salz, welches in Wasser schwer löslich war und sich daher ohne Schwierigkeit von leichter löslichen Beimengungen[2]) befreien liess. Dasselbe wurde mehrmals umkrystallisirt. Bestimmungen des Calciumgehalts und der Löslichkeit in Wasser, welche in den schliesslich erhaltenen verschiedenen

[1]) Als wir einen Theil dieser Säure in das Calciumsalz verwandelten und letzteres umkrystallisirten, erhielten wir neben einem schwer löslichen, in glänzenden Blättern krystallisirenden Salz in geringer Menge ein anderes, welches eine weit grössere Löslichkeit in Wasser zeigte.

[2]) Vgl. die vorige Anmerkung.

Krystallfractionen ausgeführt wurden, gaben folgende Resultate[1]):

A. Calciumgehalt:

	Berechnet für $(C_6H_{11}O_2)_2Ca$:	Gefunden: a)	b)
Ca	14,82	15,07	14,99 %

B. Löslichkeit in Wasser:

I. Krystallisation:		100 Th. Wasser von 19—20° lösten	2,29	Th. Salz,
II. »	a)	» » » » »	2,31	» »
	b)	» » » » »	2,22	» »
III. »		» » » » »	2,32	» »

Die Uebereinstimmung der bei den Löslichkeitsbestimmungen erhaltenen Zahlen[2]) beweist, dass das in der beschriebenen Weise dargestellte und gereinigte Kalksalz eine einheitliche Substanz war. Dasselbe wurde nun durch Behandlung mit Natriumcarbonat in das Natriumsalz übergeführt, letzteres sodann durch Schwefelsäure zersetzt. Die so gewonnene freie Säure führten wir dann in der oben schon beschriebenen Weise in die α-Amidosäure über. Die letztere besass genau dasselbe Aussehen, wie das früher dargestellte Präparat; das Gleiche gilt für die Kupferverbindung, in welche auch in diesem Falle die Amidosäure zur Reinigung über-

[1]) Analytische Belege:

A. Calciumbestimmungen:

a) 0,4426 gr. wasserfreies Salz gaben 0,0935 gr. CaO (im Gebläse geglüht),
b) 0,4827 gr. wasserfreies Salz gaben 0,2460 gr. $CaSO_4$.

B. Löslichkeitsbestimmungen:

I. Krystallisation: 11,1910 gr. Lösung gaben 0,2491 gr. wasserfreies Salz.

II. Krystallisation:
a) 11,5526 gr. Lösung gaben 0,2518 gr. wasserfreies Salz,
b) 8,7081 gr. Lösung gaben 0,1896 gr. wasserfreies Salz.

III. Krystallisation: 8,8572 gr. Lösung gaben 0,2002 gr. wasserfreies Salz.

[2]) Es sei hier darauf aufmerksam gemacht, dass die von uns gefundene Löslichkeit der von Keppich (Monatsh. für Chemie, Bd 9, S. 594) für das Calciumsalz der normalen Capronsäure gemachten Angabe (100 Th. Wasser lösen bei 20° 2,5244 gr. wasserfreies Salz) nicht genau entspricht. Doch ist die Differenz wohl nicht so gross, dass man sie nicht als durch nebensächliche Umstände verursacht ansehen könnte.

geführt wurde. Eine Löslichkeitsbestimmung gab folgendes Resultat:

7,792 gr. Lösung (dargestellt bei 22°) gaben 0,0927 gr. Rückstand. Dies entspricht einer Löslichkeit von 1 : 83,0 — ein Resultat, welches dem für das früher untersuchte Präparat gleicher Art gefundenen nahe liegt.

Auch auf dieses Product liessen wir nun Penicillium glaucum unter den früher angegebenen Versuchsbedingungen einwirken. Nach 12 wöchentlicher Dauer des Versuchs wurde der Pilz durch Filtration entfernt, die Flüssigkeit in der früher beschriebenen Weise verarbeitet und die dabei resultirende Amidosäure nach bekanntem Verfahren gereinigt. Die Untersuchung derselben im Polarisationsapparat gab folgendes Resultat: Eine Lösung in 20 procentiger Salzsäure, welche in 10 cbcm. 0,423 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte bei 17° C. im 200 mm.-Rohr 5,4° S.-V. nach links. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = -22,1°$.

Dieses Product zeigte also ein etwas schwächeres Drehungsvermögen, als die activen Substanzen, welche die aus Gährungscapronsäure dargestellte α-Amidosäure in den früher beschriebenen Versuchen lieferte. Vielleicht war demselben noch etwas von der inactiven Amidosäure beigemengt, was ja in solchen Versuchen hin und wieder vorkommt. Wir hätten darüber Aufschluss bekommen können, indem wir den Versuch mit Penicillium wiederholten. Letzteres erschien aber desshalb unnöthig, weil das oben mitgetheilte Resultat schon für sich allein beweisend ist. Denn es ist ja klar, dass eine Amidosäure, welche die Structur unseres inactiven Leucins besass, bei der Einwirkung von Penicillium glaucum nicht ein actives Product von so hohem Drehungsvermögen liefern konnte; es ist demnach zweifellos, dass auch die aus gereinigter Gährungscapronsäure gewonnene α-Amidosäure verschieden von dem aus Conglutin dargestellten Leucin ist.

Eine Stütze für diese Schlussfolgerung gibt auch die Differenz, welche sich in der Löslichkeit dieser beiden Substanzen zeigte[1]).

---

[1]) Wie aus den w. o. von uns gemachten Angaben zu ersehen ist, fanden wir für das aus Conglutin dargestellte inactive Leucin eine Lös-

Wenn nun nicht bezweifelt werden kann, dass Gährungscapronsäure die normale Säure ist, so führen die von uns erhaltenen Versuchsresultate auch zu der Schlussfolgerung, dass die normale α-Amidocapronsäure verschieden von dem aus Conglutin dargestellten Leucin ist.

Schliesslich haben wir noch mitzutheilen, dass ein Theil der aus Gährungscapronsäure dargestellten α-Amidosäure[1]) behufs Darstellung einer Oxysäure mit Kaliumnitrit und verdünnter Schwefelsäure behandelt wurde. Bei Ausführung des Versuchs, sowie bei Reinigung der dabei resultirenden Oxysäure befolgten wir die früher (S. 521) gegebenen Vorschriften. Die so gewonnene Oxysäure schmolz bei 60°. Dies entspricht den Angaben, welche für den Schmelzpunkt der normalen α-Oxycapronsäure in der Litteratur sich finden[2]).

Untersuchung einiger Leucinpräparate anderer Herkunft.

Die aus unseren Versuchen sich ergebende Schlussfolgerung, dass Leucin und α-Amidoisobutylessigsäure die gleiche Structur besitzen, konnte zunächst nur für das für jene Versuche benutzte Leucin, welches aus Conglutin dargestellt worden war, ausgesprochen werden; denn es ist denkbar, dass die aus verschiedenen thierischen und pflanzlichen Objekten dargestellten Leucine nicht identisch sind. Es erschien daher wünschenswerth, zum Vergleich noch einige Leucin-Präparate anderer Herkunft zu untersuchen.

Drei solche Präparate, welche nach dem Verfahren von Hlasiwetz und Habermann aus der Eiweisssubstanz der

lichkeit von 1 : 106,5 bei Zimmertemperatur, bezw. von 1 : 102,4 bei 21°, für die aus Gährungscapronsäure dargestellte α-Amidosäure dagegen eine Löslichkeit von 1 : 83 bei 22°, bezw. 1 : 79,5 bei 16°.

[1]) Es sei bemerkt, dass für diesen Versuch ein Präparat der Amidosäure diente, welches aus nicht gereinigter Gährungscapronsäure dargestellt war; doch war dieses Präparat sowohl durch Umkrystallisiren als durch Ueberführung in die schwer lösliche Kupferverbindung gereinigt worden.

[2]) Vgl. Beilstein, Handbuch der organischen Chemie, 2. Auflage, S. 523.

Kürbissamen, aus Leim und aus Hornspänen dargestellt wurden, können für identisch mit dem in gleicher Weise aus Conglutin erhaltenen Leucin erklärt werden; denn sie besassen nahezu das gleiche Drehungsvermögen und die gleiche Löslichkeit in Wasser, wie aus folgender Zusammenstellung zu ersehen ist:

A. Specifisches Drehungsvermögen in salzsaurer Lösung[1]):

Leucin	aus	Conglutin:	$[\alpha]_D$	= 17,3°.
»	»	Kürbiseiweiss:	»	= 17,7°.
»	»	Leim:	»	= 17,76°.
»	»	Hornspänen:	»	= 17,5°.

B. Löslichkeit in Wasser[2]):

Leucin	aus	Conglutin:	1 Th.	löste	sich	in	46	Th.	Wasser	von	18°.
»	»	Kürbiseiweiss:	»	»	»	»	45	»	»	»	19,5°.
»	»	Leim:	»	»	»	»	44½	»	»	»	16°.
»	»	Hornspänen:	»	»	»	»	41	»	»	»	19°.

Die Differenzen, welche sich zwischen den für das specifische Drehungsvermögen und für die Löslichkeit der verschiedenen Präparate gefundenen Zahlen zeigen, können für unwesentlich erklärt werden.

Es sei noch hervorgehoben, dass alle für die vorstehenden Bestimmungen benutzten Präparate sehr oft aus einem Gemisch von Weingeist mit concentrirter Ammoniakflüssigkeit, bezw.

---

[1]) Analytische Belege:

a) Leucin aus Conglutin: Vgl. diese Zeitschr., Bd. 9, S. 100.

b) Leucin aus Kürbiseiweiss: Eine Lösung in 20 procentiger Salzsäure, welche in 10 cbcm. 0,4392 gr. Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei 16—17° C. 4,5° S.-V. nach rechts.

c) Leucin aus Leim: Eine Lösung in 20 procentiger Salzsäure, welche in 10 cbcm. 0,5650 gr. Substanz enthielt, drehte unter den gleichen Bedingungen 5,8° S.-V. nach rechts.

d) Leucin aus Hornspänen: In 10 cbcm. 0,444 gr. Substanz; Drehung + 4,50 S.-V.

[2]) Analytische Belege:

a) Leucin aus Leim: 10,276 gr. Lösung gaben 0,225 gr. Rückstand.

b) Leucin aus Hornspänen: 8,022 gr. Lösung gaben 0,1900 gr. Rückstand. — In Betreff des Leucins aus Conglutin und aus Kürbiseiweiss vgl. man diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 254 u. 255.

aus verdünntem Weingeist umkrystallirt worden waren und aus völlig farblosen, atlasglänzenden Krystallblättern bestanden.

Das specifische Drehungsvermögen haben wir noch bei drei anderen Leucinpräparaten bestimmt, von denen das eine durch Behandeln von Blutfibrin mit Pancreas, die beiden anderen durch Erhitzen von thierischem Nackenband (vom Ochsen) mit verdünnter Schwefelsäure, bezw. mit Salzsäure unter Zinnchlorürzusatz dargestellt worden waren. Für die beiden letzteren Präparate wurde in salzsaurer Lösung $[\alpha]_D = +17{,}2^\circ$ und $+17{,}55^\circ$, für das erstere Präparat $[\alpha]_D = +14{,}7^\circ$ gefunden. Das aus Fibrin dargestellte Präparat konnte, da es uns nur in relativ geringer Quantität vorlag, nicht so oft umkrystallisirt werden, wie die übrigen Präparate; es ist möglich, dass es nur aus diesem Grunde ein schwächeres Drehungsvermögen zeigte.

Alle durch Zersetzung von Proteinstoffen mittelst Säuren von uns hergestellten Leucin-Präparate, welche bis jetzt von uns untersucht wurden, erwiesen sich als optisch activ, und zwar als rechtsdrehend in salzsaurer Lösung[1]).

Als optisch inactiv erwies sich dagegen ein Leucinpräparat, welches wir nach einem von Janke[2]) empfohlenen Verfahren aus Käse in folgender Weise dargestellt hatten: Emmenthaler Magerkäse wurde zerkleinert, in Wasser vertheilt und sodann 5—6 Wochen lang bei einer Temperatur von circa 40° stehen gelassen. Dann wurde die Lösung durch Filtration vom Rückstand getrennt. Wir reinigten dieselbe durch Versetzen mit Gerbsäure und Bleiessig, entfernten das überflüssige Blei durch Schwefelwasserstoff und dunsteten die Flüssigkeit sodann im

---

[1]) Erlenmeyer und Hell (Ann. d. Chem., Bd. 160, S. 258) fanden die bei gewöhnlicher Temperatur gesättigten wässerigen Lösungen einiger aus Eiweissstoffen und aus elastischem Gewebe mittelst Schwefelsäure dargestellter Leucinpräparate ohne Wirkung auf das polarisirte Licht. Die aus solchem Leucin durch Oxydation dargestellte Valeriansäure war aber optisch activ.

[2]) Mittheilung auf der Naturforscher-Versammlung in Bremen, 1890; Chem. Centralblatt, 1891, S. 703.

Wasserbade auf ein geringes Volumen ein. Nach einiger Zeit krystallisirte aus derselben Leucin aus. Dasselbe zeigte in unreinem Zustande ein schwaches Drehungsvermögen; nach mehrmaligem Umkrystallisiren erwies es sich aber als optisch inactiv. Es war schwer löslich; 1 Th. bedurfte bei Zimmertemperatur 96 Th. Wasser zur Lösung.

Es muss auffallen, dass ein Process, an welchem doch wohl Mikroorganismen sich betheiligten, ein optisch inactives Präparat lieferte. Vielleicht lässt sich dies unter Berücksichtigung der Thatsache, dass ein in unserem Laboratorium früher aus reifem Emmenthaler Käse dargestelltes Leucinpräparat optisch activ, und zwar rechtsdrehend in salzsaurer Lösung war, in folgender Weise erklären: Es ist wahrscheinlich, dass der für obigen Versuch verwendete Käse schon Leucin enthielt, ehe er in Wasser vertheilt und der Wirkung der Mikroorganismen überlassen wurde, und dass dieses Leucin optisch activ (rechtsdrehend in salzsaurer Lösung) war. Wenn nun während des Zersetzungsvorganges durch die Mikroorganismen aus den Eisweisssubstanzen des Käses ein Leucin von entgegengesetztem Drehungsvermögen gebildet wurde, so konnte dasselbe mit dem schon vorhandenen Leucin sich zu einem inactiven Product vereinigen.

Allerdings ist diese Erklärung nur annehmbar unter der Voraussetzung, dass das im Käse schon fertig gebildete active Leucin von den Mikroorganismen nicht zerstört wurde.

Dass dem in obigem Versuch erhaltenen Leucin, so lange dasselbe nicht gut gereinigt war, ein schwaches Drehungsvermögen zukam, würde sich leicht durch die Annahme erklären lassen, dass neben dem inactiven Product in geringer Menge actives Leucin vorhanden war, welches aber beim Umkrystallisiren des Rohproducts nach und nach in die Mutterlauge überging.

Aus den im Vorigen von uns mitgetheilten Versuchsergebnissen ist zu schliessen, dass dem aus Conglutin dargestellten Leucin die Constitution einer α-Amidoisobutylessigsäure zukommt; es ist ferner auf Grund jener Ergebnisse

als sehr wahrscheinlich zu bezeichnen, dass für die aus der Eiweisssubstanz der Kürbissamen, sowie aus Leim und aus Hornspänen dargestellten Leucinpräparate das Gleiche gilt.

Keines der von uns untersuchten Leucinpräparate zeigte Eigenschaften, welche zu der Annahme berechtigten, dass dasselbe identisch mit der aus Gährungscapronsäure dargestellten α-Amidosäure sei.

Die Frage, ob die aus verschiedenen thierischen und pflanzlichen Proteinstoffen dargestellten Leucinpräparate die gleiche Structur besitzen, ist früher schon hin und wieder discutirt worden. Unsere Versuche haben keinen bestimmten Anhalt für die Annahme geliefert, dass es ausser einem natürlichen Leucin, welches die Constitution einer α-Amidoisobutylessigsäure besitzt, noch ein anderes gibt[1]). Zu dieser Schlussfolgerung führt aber eine vor Kurzem von A. Kwisda[2]) gemachte Angabe. Derselbe hat Leucin, welches durch Zersetzung von Casein mittelst Salzsäure erhalten worden war, mit Jodwasserstoffsäure längere Zeit auf 180° erhitzt und die dabei resultirende Capronsäure untersucht. Er erklärt die letztere für die normale Säure, und zwar auf Grund der Ergebnisse, welche er bei Bestimmung des Krystallwassergehalts und der Löslichkeit des Kalksalzes der Säure erhielt.

Dies führt zur Annahme, dass ausser einem Leucin, welches die Constitution der α-Amidoisobutylessigsäure besitzt, noch ein anderes existirt, welches sich von der normalen Capronsäure ableitet[3]).

Wir wollen schliesslich noch darauf aufmerksam machen, dass die Entscheidung der Frage, wie viel Leucin verschiedener Constitution unter den Zersetzungsproducten der Proteinstoffe

---

[1]) Allerdings haben wir für das aus Blutfibrin mittelst Pancreas dargestellte Leucin ein etwas schwächeres Drehungsvermögen gefunden, als für die anderen Präparate; vielleicht aber wäre das Drehungsvermögen des ersteren Präparats noch gestiegen, wenn wir dasselbe noch öfter hätten umkrystallisiren können.

[2]) Monatshefte für Chemie, Bd. 12, S. 423—425.

[3]) Es sei hier aber erwähnt, dass J. Mauthner (l. c.) für ein aus Casein dargestelltes Leucinpräparat ein Drehungsvermögen fand, welches demjenigen der von uns untersuchten Präparate sehr nahe liegt.

sich finden, keineswegs leicht ist, und zwar aus folgendem Grunde: Wenn man Proteinstoffe durch Säuren oder andere Agentien zersetzt und aus den dabei erhaltenen Producten nach bekannter Methode das Leucin abscheidet, so erhält man bekanntlich zunächst ein «Roh-Leucin», welches in seinen Eigenschaften vom reinen Leucin bedeutend abweicht. Es besteht nicht, wie das letztere, aus glänzenden Krystallblättern, sondern bildet eine mehr oder weniger gefärbte krümelige Masse, welche entweder amorph ist, oder nur aus sehr kleinen Krystallen besteht. In Wasser ist sie relativ leicht löslich. Erst durch wiederholtes Umkrystallisiren erhält sie diejenigen Eigenschaften, welche für reines Leucin angegeben werden.

Wer einmal eine solche Darstellung ausgeführt hat, weiss zur Genüge, dass beim wiederholten Umkrystallisiren des Rohleucins ein sehr grosser Theil desselben in die Mutterlauge übergeht, so dass der Quantität nach das schliesslich resultirende reine Präparat nur wenig vom Gewicht des Rohleucins ausmacht.

Man pflegt nun in der Regel wohl anzunehmen, dass dem Rohleucin die abweichenden Eigenschaften nur durch eine Beimengung geringer Quantitäten anderer Amidosäuren gegeben werden. Doch kann diese Annahme als eine völlig bewiesene nicht hingestellt werden. Es liegt wohl im Bereich der Möglichkeit, dass im Rohleucin zwei Leucine[1]) von verschiedener Constitution enthalten sind, von denen das eine beim Umkrystallisiren des Rohproductes nach und nach in die Mutterlaugen übergeht. Sind auch zur Zeit keine Thatsachen bekannt, welche eine bestimmte Stütze für eine solche Annahme geben können[2]), so liegen doch auch andererseits, so-

[1]) Selbst die Annahme, dass im Rohproduct mehr als zwei Leucine enthalten sind, dürfte wohl zur Zeit nicht als eine ganz unmögliche bezeichnet werden können.

[2]) Falls man nicht etwa als eine solche Stütze den Umstand betrachten will, dass die für die Löslichkeit des gewöhnlichen, optisch activen Leucins in der Literatur sich findenden Angaben stark differiren. Früher ist meistens für Leucin eine Löslichkeit von 1 : 27 (bei Zimmertemperatur) angegeben worden, während die von uns untersuchten Präparate eine Löslichkeit von 1 : 40 bis 1 : 46 zeigten.

viel wir wissen, keine Beobachtungen vor, welche ein absolutes Hinderniss für dieselbe bilden.

Dass es sehr schwierig ist, über alle Bestandtheile der beim Eiweisszerfall entstehenden Gemenge von Amidosäuren Aufschluss zu gewinnen, dürfte auch aus den Untersuchungen zu ersehen sein, deren Ergebnisse der Eine von uns [1]) in dieser Zeitschrift früher publicirt hat.

---

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 63.

Zur Abwehr.

Von

E. Baumann.

(Der Redaction zugegangen am 5. December 1892.)

Im vorletzten Hefte dieser Zeitschrift[1]) unterzog Salkowski eine Reihe von Arbeiten über den Nachweis von Kohlenhydraten im Harn, welche aus meinem Laboratorium hervorgegangen sind, einer kritischen Besprechung, welche damit beginnt, dass er dem Autor der jüngst publicirten Abhandlung, Herrn Treupel, den Vorwurf der Ungerechtigkeit macht. Da Herr Dr. Treupel durch Krankheit verhindert ist, sich gegen den Angriff Salkowski's zu vertheidigen, habe ich mich entschlossen, mit wenigen Worten zu zeigen, dass die von Salkowski vorgebrachte Klage der Begründung durchaus ermangelt.

Im Jahre 1856 hat Neubauer[2]) gefunden, dass bei der Vergährung von diabetischem Harn reichlich Essigsäure gebildet wird. In dieser Arbeit findet sich auch eine Angabe Neubauer's, dass der nicht mit Zucker versetzte normale Harn, nachdem er gefault ist, in der Regel Essigsäure enthält. Ueber letzteren Punkt spricht sich Neubauer bestimmter in der 1875 erschienenen 7. Auflage seiner Analyse des Harns aus, wo Neubauer S. 8 sagt, dass nach seinen Beobachtungen jeder alte Harn Essigsäure enthalte, welche leicht und in erheblicher Menge abgeschieden werden könne. In dem gleichen Werke (S. 124) äussert sich Neubauer bei Besprechung der Harngährung in folgender

[1]) Bd. 17, S. 229.

[2]) Ueber die flüchtige Säure, die sich bei der Gährung des diabetischen Harns bildet, Ann. d. Chem. u. Pharm., 97, S. 129. Journ. pr. Chem., 68, S. 191. Chem. Centralbl., 1856, S. 288.

Weise: «Die gebildeten starken Säuren, darunter namentlich Essigsäure, welche in keinem älteren Urin fehlt, zerlegen die harnsauren Salze etc.»

Diese Angaben Neubauer's sind in die 8. Auflage seines Werkes, welches bei der ersten Bearbeitung durch Huppert wesentlich gekürzt worden war, nicht übergegangen. Dagegen führt sie Löbisch[1]) (Analyse des Harns, 1881, 2. Aufl., S. 351) mit folgenden Worten an: «Die Essigsäure erscheint im Harn nach Neubauer, sobald derselbe seinen Gährungsprocess begonnen hat, besonders reichlich im diabetischen Harn.»

Im Jahre 1881 erschien eine Arbeit von Röhmann[2]) aus meinem Laboratorium über die saure Harngährung, welche wesentlich von den Beobachtungen Neubauer's ausgeht und diese im Wortlaute citirt. Röhmann zeigte, dass u. A. (im Gegensatze zu einer älteren Beobachtung von Liebig, welche von Neubauer bestätigt wurde, Ann. d. Chem., 97, S. 133) der Zusatz schon sehr kleiner Mengen von Zucker zum Harn die Säurebildung in demselben deutlich hervortreten lässt, und kommt zu dem Schlusse, dass die sogenannte saure Harngährung, wenn sie überhaupt eintritt, durch die Vergährung von Zucker, Alkohol oder ähnlichen Stoffen bedingt sei. Die Frage, um welche Säure es sich dabei hauptsächlich handle, brauchte Röhmann nicht weiter zu untersuchen, weil er keinen Grund hatte, an der Richtigkeit der Angaben von Neubauer, auf welchen seine Arbeit fusste, zu zweifeln. Dass Röhmann aber thatsächlich die Bildung der Essigsäure in erster Linie im Auge hatte, geht zur Genüge daraus hervor, dass er ausser dem Zucker den Gehalt des Harns an Alkohol für diese Säurebildung in Betracht zog. Es ist nicht wohl denkbar, dass aus dem Alkohol unter den vorliegenden Verhältnissen eine andere Säure als die Essigsäure gebildet werden könnte.

[1]) Wer in dem Buche von Löbisch im Register das Wort Essigsäure aufsucht und nachschlägt, findet das obige Citat. Salkowski behauptet dagegen, dass in dem genannten Werke von Löbisch die Bildung von Essigsäure bei der ammoniakalischen Harngährung nicht erwähnt werde, und dass er auch sonst vergeblich nach analogen Beobachtungen gesucht habe.

[2]) Diese Zeitschrift, Bd. 5, S. 94—122.

Nachdem durch zahlreiche Untersuchungen, welche dem letzten Jahrzehnt angehören, mit Sicherheit festgestellt worden ist, dass jeder normale Harn Kohlenhydrate[1]) enthält, lag es nicht ferne, die Bildung der Essigsäure in jedem gefaulten Harn auf das Vorhandensein der in jedem Harn vorkommenden Kohlenhydrate zu beziehen.

Ein halbes Jahr nach der Publication von Udránszky zeigte Salkowski (diese Zeitschr., Bd. 13, S. 265), dass 1) der gefaulte Harn Essigsäure enthält und 2) dass er eine andere Quelle der Bildung von Fettsäuren bei der Harngährung ausser den Kohlenhydraten des Harns nicht gefunden habe. Da Salkowski ältere Autoren nicht citirte, konnte man schliessen, dass er die Angaben Neubauer's und die Arbeit Röhmann's, welche die Beobachtungen Neubauer's wiedergibt, nicht kenne.

Für denjenigen, welcher die oben angeführte Literatur über den vorliegenden Gegenstand kennt, steht indessen die Thatsache wohl fest, dass Salkowski nach Neubauer (1856 u. 1875) und nach Röhmann (1881) als dritter Bearbeiter der Frage der Säurebildung bei der Harngährung (1888) aufgetreten ist. Durchaus zutreffend citirt daher Treupel, nachdem er die Arbeiten von Neubauer und von Röhmann erwähnt hat: «Salkowski hat vor wenigen Jahren die Untersuchungen dieser Beziehungen (der Bildung von Essigsäure und dem Zuckergehalt des Harnes) wieder aufgenommen und in Uebereinstimmung mit älteren Autoren gefunden, dass der gefaulte Harn grosse Mengen von Essigsäure enthält, und dass diese Säure im Wesentlichen aus den Kohlenhydraten des Harns gebildet werde.

Dieser Satz hat das Selbstgefühl Salkowski's derartig verletzt, dass er behauptet, es werde durch denselben der Anschein erweckt, dass er ältere Beobachtungen wissentich verschwiegen habe.

---

[1]) Vergl. in erster Linie v. Udránszky, diese Zeitschr., Bd. 12, S. 379 u. 380. Udránszky hat damals schon gezeigt (1888), dass der Benzoylchloridniederschlag die Schiff'sche Furfurolreaction in eclatanter Weise gibt. Diese Reaction ist seitdem als Controlversuch in meinem Laboratorium sehr oft angewendet worden. Auch Treupel hat sich dieser Reaction bedient, ohne ein Wort darüber zu verlieren. Salkowski hat es für nöthig gehalten, diese Reaction aufs Neue festzustellen (l. c. S. 254).

Ich will hierzu zunächst bemerken, dass Treupel, wenn er einen derartigen Vorwurf gegen Salkowski hätte vorbringen wollen, ihn unzweifelhaft ganz deutlich ausgesprochen haben würde, und dass Herr Treupel es in jedem Falle verschmäht haben würde, durch versteckte Aeusserungen irgend welcher Art Salkowski's bekanntes Selbstgefühl in Versuchung zu führen.

Es ist aber durchaus ungereimt, wenn Salkowski sich darüber beschwert, dass ihm der Vorwurf gemacht werde, er habe die älteren Beobachtungen wissentlich verschwiegen. Denn Treupel sagt ja gar kein Wort davon, dass Salkowski überhaupt irgend etwas verschwiegen habe. Er konnte also ganz unmöglich den Anschein erwecken wollen, als ob Salkowski wissentlich etwas verschwiegen habe. Treupel hat sich vielmehr darauf beschränkt, die Literaturangaben, auf welche er sich zu beziehen hatte, in richtiger Reihenfolge anzugeben. Aus dem Mitgetheilten geht hervor, dass kein sachlicher Grund für die Angriffe Salkowski's gegen Treupel existirt.

Ich muss noch mit wenigen Worten die Vertheidigung Salkowski's gegen den Vorwurf, der ihm nicht gemacht worden ist, berühren. Salkowski erklärt: 1) dass er Neubauer's Angaben nicht gekannt hätte, welche halb vergessen und nicht genau präcisirt gewesen seien[1]), 2) dass er Röhmann's Arbeit sehr wohl kenne, und dass ihn der Vorwurf des wissentlichen Verschweigens treffen könne, wenn die Publication Röhmann's als ein Vorläufer seiner Arbeit anzusehen sei.

Er ergeht sich in breiter Ausführung, wesshalb Röhmann's Arbeit mit seiner Publication gar nichts zu thun habe. Ich theile die Ansicht Salkowski's nicht und glaube über die Art der Fragestellung bei Röhmann's Arbeit besser unterrichtet zu sein als Salkowski. Allein ich will dem letzteren daraus keinen Vorwurf machen. Sehr entschieden aber muss ich die Behauptung von Salkowski zurückweisen, dass die von Röhmann beobachtete Zunahme der Acidität des Harns nicht auf Bildung flüchtiger Fettsäuren zu beruhen brauchte,

[1]) Dass Salkowski in dem Eifer, diesen Punkt zu beweisen, etwas zu weit geht, ist schon oben gezeigt worden.

sondern auf Milchsäuregährung, vielleicht auch auf die Oxydation von Ammoniak zu salpetriger Säure[1]) zurückzuführen sei. Hierbei hätte Salkowski die Thatsache nicht mit Stillschweigen übergehen dürfen, dass Röhmann die Beobachtungen Neubauer's wohl bekannt waren, dass Röhmann auf diese sich ganz ausdrücklich bezieht und dass diese zu einem wesentlichen Theile den Ausgangspunkt der ganzen Untersuchung von Röhmann bilden. Es ist gar nicht möglich, dass Jemand die Arbeit Röhmann's auch nur oberflächlich durchsieht, ohne die durch .... hervorgehobenen Citate der Neubauer'schen Angaben (diese Zeitschr., Bd. 5, S. 96 u. 97) zu bemerken.

Salkowski behauptet, die Arbeit Röhmann's wohl zu kennen. Er selbst hat für den Fall des hier geführten Nachweises, dass Röhmann's Arbeit in nächster Beziehung zu Neubauer's und damit auch Salkowski's Beobachtungen steht, sich den Vorwurf des wissentlichen Verschweigens angedroht. Ich will hierin nicht soweit gehen als Salkowski, muss aber doch sagen, dass es die Pflicht des Kritikers gewesen wäre, die Arbeit von Röhmann durchzulesen, bevor er über die Fragestellung, den Versuchsplan und die Art der Ausführung sich so bestimmt äussert, wie Salkowski es thut.

Auf die kritischen Bemerkungen, welche Salkowski in seiner fast 3 Druckbogen langen Abhandlung gegen andere Arbeiten aus meinem Laboratorium macht, glaube ich nicht näher eingehen zu sollen. Denn sie sind theils belanglos wie die Betrachtungen über die Reinheit der Schwefelsäure[2]), zum

---

[1]) Dass dieses nicht der Fall ist, hat Röhmann (diese Zeitschr., Bd. 5, S. 236 (1881) gezeigt.

[2]) Salkowski führt an, dass ursprünglich reine Schwefelsäure in seinem Laboratorium beim Aufbewahren bald Spuren von Oxyden des Stickstoffs aufnehme, so zwar, dass sie mit α-Naphtol eine mehr oder weniger deutliche Grünfärbung gebe, und wundert sich darüber, dass Treupel, welchem beim Beginn seiner Arbeit eine völlig reine Schwefelsäure nicht zu Gebote stand, später einmal eine solche bei Ausführung eines Controlversuches, der ohne völlig reine Schwefelsäure unmöglich gewesen wäre, gehabt haben müsse, weil Treupel diesen Umstand nicht besonders hervorhebt. Man wird sich schwer überzeugen, dass derartige Hinweise, wie sie Salkowski bei dieser Gelegenheit macht, irgend eine sachliche Bedeutung haben.

Theil beruhen sie auf dem Mangel des Verständnisses des Kritikers für kleine Abänderungen bei Wiederholungen bestimmter Versuche[1]) und in Hauptsachen führen sie den Kritiker selbst zu keinem bestimmten Ergebnisse, wie bei der Frage der Verwerthbarkeit der Furfurolreaction. Die wesentlichste Bedeutung der Furfurolreaction hat aber der Kritiker, wie es scheint, ganz übersehen. Der Werth dieser Reaction beruht in dem Umstande, dass sie die weitaus empfindlichste Reaction für den Zuckergehalt im Harn ist, und Spuren von Kohlenhydraten sicher anzeigt, welche auch nicht entfernt auf anderen Wegen nachgewiesen werden. Eine Reaction, welche in einem Tropfen Harn, welcher zuvor auf sein 3—4faches Volum verdünnt worden ist, die Gegenwart von Kohlenhydraten sicher erkennen lässt, wird trotz aller Mängel, welche man ihr sonst nachsagen kann, eine gewisse Berechtigung und Bedeutung so lange besitzen, bis sie durch eine vollkommenere Methode ersetzt werden kann. Wer sich die Mühe

[1]) Hierher gehört die Beanstandung Salkowski's, dass Roos bei der Benzoylchloridreaction mehr Benzoylchlorid und mehr Natronlauge verwendete als Wedenski. Der Grund dazu ergab sich aus der Erfahrung, dass der Harn von Hunden und von Kaninchen bei dieser Reaction grosse Mengen von Benzamid lieferte; um eine Störung des Nachweises der Zuckerarten hierdurch zu vermeiden, hat Roos die Mengenverhältnisse von Natronlauge und Benzoylchlorid verändert. Roos hat es unterlassen, Gründe dafür anzuführen, weil diese Aenderung keinen Fehler der Bestimmung veranlassen konnte.

Hierher gehören auch die Bemängelungen Salkowski's, dass von Udránszky, Luther (welcher seine Arbeit nicht in meinem Laboratorium und nicht auf meine Veranlassung ausgeführt hat; ich halte seine Resultate für durchaus richtig und seine Beurtheilung der Furfurolreaction für viel zutreffender, als die Ansicht von Salkowski über dieselbe) und Treupel verschiedene Lösungsmittel (Aethylalkohol, Chloroform und Methylalkohol) für das α-Naphtol verwendet worden seien. Salkowski hat diese Versuche mit Naphtollösungen in Aethylalkohol und Methylalkohol wiederholt (l. c. S. 261) und dabei nicht bemerkt, dass die Wahl des Lösungsmittels von einem Einflusse auf den Ausfall der Reaction sei, was für den, welcher die Verhältnisse zu beurtheilen weiss, wohl selbstverständlich ist. Es ist daher befremdlich, dass Salkowski Beanstandungen macht, deren Gegenstandslosigkeit aus dem Inhalte einer folgenden Seite seiner Schrift hervorgeht.

nimmt, sich einzuüben, wird auch quantitative approximative Bestimmungen mit derselben ausführen können, worüber Belege wohl in ausreichender Zahl vorliegen, die durch die Aeusserungen Salkowski's ihre Beweiskraft nicht verloren haben. Da Salkowski sich nicht hat entschliessen können, diese Methode zu quantitativen Bestimmungen anzuwenden, an welchen er allenfalls die Richtigkeit der Resultate auf anderem Wege hätte controliren können, kann sein Urtheil über dieselbe wenig massgebend sein. Vielleicht besitzt er selbst ein so geringes Unterscheidungsvermögen für Farben, dass er sich für derartige Beobachtungen überhaupt nicht eignet. Es ist übrigens leicht und billig, bei jeder colorimetrischen Methode Mängel herauszufinden.

Schliesslich möchte ich die Vermuthung Salkowski's bestätigen, dass über die Benzoylverbindungen der Kohlenhydrate im Harn in meinem Laboratorium noch weitere Untersuchungen ausgeführt worden sind, deren Abschluss — was auch mir bedauerlich ist — aus Gründen, welche hier nicht zu erörtern sind, verzögert worden ist.

Ueber Ptomaine, welche bei der Fäulniss von Pferdefleisch und Pankreas entstehen.

Von

Dr. S. Adeodato Garcia aus Santiago de Chile.

(I. Mittheilung).

(Der Redaction zugegangen am 20. November 1892.)

Es sind bis jetzt viele Körper aus der Reihe der sogenannten Ptomaine beschrieben worden. Für die vorliegende Arbeit ist speciell von Interesse, einen flüchtigen Blick auf die Substanzen zu werfen, welche aus in Fäulniss gerathenem Fleisch und Eiweiss, bei An- oder Abwesenheit von Pankreas, dargestellt und gut durch analytische Belege charakterisirt sind.

Der erste Körper aus der Classe der Ptomaine, welcher chemisch analysirt wurde, ist das Collidin Nencki's[1], und obgleich er als Ptomain nicht aufgefasst wurde, da zur Zeit seiner Auffindung selbst der Name «Ptomain» nicht gebraucht, sondern später von Selmi[2]) erst zur Anwendung gebracht wurde.

Fünf Jahre später entdeckten Gautier und Etard[3]) bei der Eiweissfäulniss zwei Körper, von welchen sie den einen als Parvolin mit der Formel $C_9H_{13}N$ und den anderen als ein Hydrocollidin von der Zusammensetzung $C_8H_{13}N$

[1]) Nencki, Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas. Bern 1876.

[2]) Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, 1878.

[3]) Gautier und Etard, Comptes rendus, B. XCIV.

bezeichneten. Diese zwei Substanzen stellen nach Gautier's und Etard's Angaben ölige und unangenehm riechende Massen dar, welche mit Salzsäure in Wasser und Alkohol lösliche Verbindungen eingehen, und welche mit Platinchlorid aus diesen Lösungsmitteln als schwer lösliche Niederschläge sich abscheiden lassen. Aus der Mutterlauge des Hydrocollidinplatinsalzes wurde ferner eine Base der Formel $C_{17}H_{38}N_4$ dargestellt, die von Gautier und Etard nicht benannt worden ist.

Im Jahre 1883 wurde von E. und H. Salkowski[1]) aus faulem Fibrin und Fleisch die Base $C_6H_{11}NO_2$ gewonnen, deren Zusammensetzung die eines anhydrischen Betains ist. Mit dieser Base wurden von den Verfassern Salzsaure, Chloroplatin und Aurochloridsalze dargestellt.

Guareschi und Mosso[2]) haben in demselben Jahr durch Fäulniss von Rindfleisch einen Körper der Zusammensetzung $C_{10}H_{15}N$ gewonnen, wahrscheinlich dieselbe Substanz, welche später von Oechsner de Coninck[3]) durch Fäulniss von Seepolypen dargestellt wurde.

Noch im Jahre 1883 erhielt Pouchet[4]) als Fäulnissproducte der Knochen, Fleisch u. s. w. von Fabrikresiduen durch Einwirkung von Schwefelsäure zwei sauerstoffhaltige Producte, welche mittelst Platinchlorid und verschiedener Löslichkeit der Platinsalze in starken Alkohol und Aether getrennt wurden. Das in starken Alkohol unslösliche Platinsalz hat nach Pouchet die Formel $(C_7H_{18}N_2O_6, HCl)_2PtCl_4$, und das im Alkohol-Aether ebenso unlösliche Platinsalz die Formel $(C_8H_{12}N_2O_4, HCl)_2PtCl_4$.

Die grösste Arbeit über Ptomaine ist von Brieger[5]) ausgeführt worden. Von den Körpern, welche aus Cadavertheilen, Pferdefleisch, Rindfleisch, inneren Organen etc. isolirt wurden, sind zu erwähnen: Dimethylamin $(CH_3)_2NH$, Trimethylamin $(CH_3)_3N$, Putrescin $C_4H_{12}N_2$, Ca-

[1]) Salkowski, E. und H., Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft, 1883.
[2]) Guareschi und Mosso, Arch. ital. d. Biologie, Bd. II.
[3]) Oechsner de Coninck, Bull. d. l. societ. chim., 1884.
[4]) Pouchet, Comptes rendus XCVII.
[5]) Brieger, Ueber Ptomaine, Berlin, 3 Theile, 1885 -86.

daverin $C_5H_{14}N_2$, Saprin $C_5H_{16}N_2$, Neuridin $C_5H_{14}N_2$, Mydin $C_8H_{11}NO$, Neurin $C_5H_{13}NO$, Cholin $C_5H_{15}NO_2$, Mydatoxin $C_6H_{13}NO_2$, und die Base $C_7H_{17}NO_2$. Alle diese Substanzen wurden als Salzsaure, Chloroplatin, Aurochlorid oder Pikrinsauresalze und durch ihre verschiedene Löslichkeit in Wasser, Alkohol und Aether getrennt. Es würde zu weit führen, weiteres hier über sie anzugeben.

Von diesen Körpern sind das Cadaverin als ein Pentamethylendiamin $NH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ durch Ladenburg und Brieger[1]) und später durch Baumann und v. Udránszki[2]) und das Putrescin als ein Tetramethylendiamin $NH_2CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$ durch die zwei letzten Autoren[3]) festgestellt, und neben Cystin im Harn bei Cystinurie gefunden worden.

Die vielen anderen von Selmi, Brouardel und Boutmy etc. etc. beschriebenen Ptomaine sind entweder mehr oder weniger giftige Extracte gewesen, oder gut chemisch analysirte, aber aus anderen Quellen als die schon erwähnten gewonnenen Substanzen.

Die sehr umfangreiche Literatur ist schon oft bei Brieger's[4]), Wiebecke's[5]) und Vaughan's[6]) Arbeiten zusammengestellt worden.

Beim Schütteln von Urin eines Cystinkranken mit 10% Natronlauge und Benzoylchlorid wurden von Baumann und v. Udránszky[7]) neben Benzoylcystin Verbindungen von Cadaverin und Putrescin als Benzoylpentamethylendiamin und Benzoyltetramethylendiamin isolirt. Diese Methode ist von Baumann und v. Udranszky angewendet

---

[1]) Brieger, l. c., S. 99, III. Theil; Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. XIX, S. 2585.

[2]) Baumann und v. Udránszky, diese Zeitschr., Bd. XIII, S. 570; l. c., S. 574, und Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. XXI, S. 2933.

[3]) Dieselben, ll. cc.

[4]) Brieger, l. c.

[5]) Wiebecke, Huth's Sammlungen wissenschaftlicher Vorträge, Berlin 1886.

[6]) Vaughan, Ptomaine, Philadelphia 1888.

[7]) Baumann und v. Udránszky, diese Zeitschrift, Bd. XIII.

worden, um die Gewinnung von Cadaverin und Putrescin aus Fäulnissflüssigkeiten zu erzielen, nachdem die Verfasser quantitative Trennungen der Diaminen durch Benzoylchlorid und Natronlauge und durch Pikrinsäure erreicht hatten. Ich kann den Vortheil dieser Methode durchaus bestätigen.

Bei anderen Untersuchungen, die ich nächstens zur Veröffentlichung zu bringen hoffe, habe ich die erwähnte Methode verwendet, und es ist mir gelungen, ausser den Benzoylverbindungen des Penta- und Tetramethylendiamins, eine andere Benzoylverbindung darzustellen, die mit den zwei letztgenannten Substanzen in naher Beziehung steht.

Bei der Trennung des Dibenzoylcadaverins von Dibenzoylputrescin aus der weingeistigen Lösung beider Diamine durch Ausfällen des letzteren mittelst viel Aether, ist mir aufgefallen, dass nach dem Verdunsten der ätherischen Lösung, Auflösen des Rückstandes in Alkohol und Fällung des aufgelösten Dibenzoylcadaverins durch viel Wasser, ein Körper, dessen Schmelzpunkt, auch nach wiederholter Umkrystallisation aus Wasser, nicht gut zu bestimmen war, entfernt wurde. Er fing bei 122° an zu sintern und schmolz vollständig erst bei 128—129°. An eine Beimengung von Benzamid war nicht zu denken, da dies bei 128° schmilzt, somit konnte es kein so grosses Herunterdrücken des Schmelzpunktes verursachen, im Falle dass Benzamid vorhanden gewesen wäre. Eine Beimengung von Benzoesäure war ebenfalls nicht zu befürchten, nach den wiederholten Umkrystallisationen aus vielem Wasser. So lag also die Annahme nahe, dass mit dem Dibenzoylpentamethylendiamin ein anderer Körper vermengt war, dessen Unlöslichkeit in Wasser eine annähernde so grosse ist, wie die des Dibenzoylcadaverins. Die Versuche, das Gemeng durch Benzol, Ligroin, Aceton, Chloroform, Acetessigäther etc. zu trennen, missglückten. Entweder löst sich das Gemeng ganz, oder geht nicht in Lösung. Nach vielem Suchen und Probiren habe ich in folgender Weise eine brauchbare Trennung erzielt.

Das Gemeng, welches man in etwas mehr Weingeist, als zur Lösung erforderlich ist, gelöst hat, bringt man jetzt

in einen Kolben auf das Wasserbad und erwärmt es, bis die Lösung die Temperatur von 70° zeigt. Man setzt dann in kleinen Portionen Wasser hinzu, so dass die Temperatur der Flüssigkeit nicht über 70° steigt. Hat man 50 mal so viel Wasser als Lösung hinzugesetzt, so unterhält man die Temperatur immer auf 70° 20—30 Minuten und filtrirt dann warm und rasch durch ein Asbestpfropf mittelst einer Wasserstrahlpumpe. Nach dem Erkalten des Filtrats scheidet sich ein in glänzenden, langgestreckten Nadeln und Tafeln krystallisirter Körper aus, welcher bei 100° getrocknet und über Schwefelsäure zum Erkalten gebracht, einen Schmelzpunkt von 124.5°—125° zeigt. Den im Trichter zurückgebliebenen schuppenartigen Niederschlag löst man in wenig warmem Alkohol und giesst diese Lösung in viel Wasser (das 30- bis 40fache Volumen). Die auf diese Weise erhaltene krystallinische Substanz besteht grösstentheils aus Dibenzoylpentamethylendiamin und aus einer kleinen Menge des vorher beschriebenen Körpers. Wiederholt man den ersten Vorgang mit etwas weniger Wasser, so kann man wieder zwei Portionen von einander trennen, von denen die eine bei 125°, die andere bei 129.5°—130° schmilzt.

Die Analysen einer bei 126° schmelzenden Portion der Benzoylverbindung gab mir folgende Werthe. Ich muss aber hervorheben, dass diese Portion durch wenig auf 90° erwärmtes Wasser aus dem Gemenge entfernt wurde und durch wiederholtes Umkrystallisiren aus viel Wasser den angegebenen Schmelzpunkt mit kleinen Differenzen zeigte, obgleich sie nach den späteren Ergebnissen als nicht ganz rein zu betrachten ist.

I. 0,1112 gr. Substanz gaben 0,3017 gr. CO_2 = 73,91 % C.
0,0725 gr. H_2O = 7,24 % H.

II. 0,1285 » » » 0,3470 gr. CO_2 = 73,75 % C.
0,0838 gr. H_2O = 7,24 % H.

III. 0,1734 » » » 13,8 cbcm. Stickstoff bei 17,6° T. und 752 B = 9,12 % N.

IV. 0,1909 » » » 15,2 cbcm. Stickstoff bei 17,6° T. und 752 B, = 9,12 % N.

Mittel der Analysen:

C	=	73,78 %.
H	=	7,24 »
N	=	9,12 »

Berechnet

		für $C_{19}H_{22}N_2O_2$:			für $C_{20}H_{24}N_2O_2$:
C	=	73,55 %.	C	=	74,07 %.
H	=	7,09 »	H	=	7,40 »
N	=	9,03 »	N	=	8,64 »

Die C- und H-Werthe der Analysen sind, wie man sehen kann, zu hoch für ein Dibenzoylcadaverin und stimmen besser mit der Formel $C_{20}H_{24}N_2O_2$, d. h. mit der Benzoylverbindung eines bis jetzt noch nicht dargestellten Körpers $C_6H_{16}N_2$ oder ein Multiplum des Putrescins $C_4H_{12}N_2$ und des Cadaverins $C_5H_{14}N_2$. Dagegen die N-Werthe sind zu hoch für den Körper $C_6H_{16}N_2$ und sprechen mehr für ein Dibenzoylpentamethylendiamin.

Es ist von nicht geringem Interesse, zu erfahren, dass durchaus ähnliche Analysen von Baumann und v. Udránszky[1]) für ein Dibenzoylcadaverin verwerthet worden sind. Die Analysen sind folgende:

	Substanz v. Schmelzp. 126—127°:			
	1.	2.	3.	4.
C	73,96	73,89	—	—
H	7,10	7.28	—	—
N	—	—	9,27	9,14

	Substanz v. Schmelzp. 129,5°:			
	5.	6.	7.	8.
C	73,12	73,26	—	—
H	7,18	7,14	—	—
N	—	—	8,58	9,08

Man ersieht daraus, wie Analyse 1, 2 und 7 mit einer Benzoylverbindung von $C_6H_{16}N_2$ besser übereinstimmen als mit dem Körper $C_{19}H_{22}N_2O_2$. Demnach lag mir der Gedanke nahe, dass ich es mit einer Substanz von höherem C- und H-Gehalt zu thun hatte.

[1]) Baumann und v. Udránszky, diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 568.

Da C-, H- und N-Analysen durch den geringen Unterschied dieser drei Elemente in beiden Substanzen nicht massgebend für eine Entscheidung der Frage sind, so wurde von mir versucht, andere Verbindungen darzustellen. Bei der Verarbeitung weiterer Quantitäten der Substanz lernte ich die beschriebene Trennungsmethode kennen und erhielt nun bessere analytische Resultate.

Eine kleine Portion bei 125° schmelzender Substanz wurde nach Baumann's und v. Udránszky's[1]) Vorschriften auf dem Wasserbade in einer Mischung aus gleichen Theilen Alkohol und concentrirter Salzsäure gelöst und 48 Stunden erhitzt. Nach dieser Zeit war die Benzoylverbindung vollständig verseift, wie es eine Probe der Flüssigkeit mit Natronlauge zeigte. Nach Abdestilliren eines grossen Theiles des Alkohols, Verdünnen mit viel Wasser, Filtriren der abgeschiedenen Benzoësäure und Neutralisiren des Filtrats bis auf schwache saure Reaktion mit Natriumcarbonat, wurde die Flüssigkeit erst mit Aether geschüttelt, dann auf dem Wasserbade bis zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde dann mit gutem absoluten Alkohol extrahirt und mittelst Platinchlorid auch in absolutem Alkohol gelöst, gefällt. Die in heissem Wasser gelöste Platinverbindung zeigte nach dem Erkalten nadelförmige, langgestreckte sehr gut ausgebildete Krystalle über 1 Centimeter lang von dunkel orange Farbe, welche bei 100° getrocknet und analysirt, folgende Werthe für Platin zeigten:

I. 0,1751 gr. Substanz gaben 0,065 Pt. = 37,12 %.
II. 0,1246 » » » 0,0458 Pt. = 36,75 %.

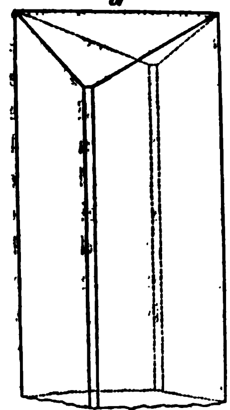
	Gefunden		Berechnet für
	1.	2.	$C_6H_{12}(NH_2HCl)_2PtCl_4$:
Pt,	37,12	36,75	37,01

Das Platindoppelsalz des Pentamethylendiamins verlangt dagegen 38.02 Pt.

Da Krystalle von Salzsaurenpentamethylendiaminplatinchlorid gemessen worden sind[2]), so war es von Interesse,

[1]) Baumann und v. Udránszky, diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 568.
[2]) Brieger, Ptomaine, II. Theil, S. 37.

die Werthe meiner Platinchloriddoppelverbindung mit denen des Chloroplatinpentamethylendiamins Brieger's zu vergleichen. Hr. Prof. Bücking hat auf meine Bitte die Güte gehabt, die folgenden Messungen mir zu überlassen, welche von Hrn. J. Feuer an dem hiesigen Mineralogischen und Petrographischen Institute an meinen Krystallen angestellt worden sind, wofür ich besonders Herrn Prof. Bücking meinen besten Dank hier sage.



«Salzsaureplantinchloridverbindung.

Krystallsystem: Rhombisch:
a : b : c = 0,8471 : 1 : 0,6379.

Beobachtete Formen:
m = ∞ P {110}, d = P̄ ∞ {101}, a ∞ P̄ ∞ {100}

«Die braungelben Kryställchen sind im Maximum 0,5 mm dick und bis zu 1 cm lang. Durch die starke Verlängerung nach der c-Axe erscheinen dieselben nadelförmig. Das Makropinakoid, welches nur als sehr feine Abstufung der Prismenkante auftritt, wurde eigentlich beobachtet als steiles Makrodoma, für welches sich das ungewöhnliche Zeichen 90P̄ ∞ berechnen würde.

Es wurde daher für die Fläche das Symbol ∞ P̄ ∞ gewählt.

«Die Kryställchen sind sehr spröde und zeigen bei schwacher Vergrösserung deutliche Spaltbarkeit nach o P.

«Auf den Prismenflächen findet gerade Auslöschung statt.

Winkeltabelle.

	Gemessen.	Berechnet.	Hirschwald.
$\bar{1}10 : 110$	*80° 32′	—	79° 12′
$101 : \bar{1}01$	*73° 58′	—	73° 24′
101 : 110	62° 57′	62° 40′	—
101 : 100	52° 10′	53° 1′	—

«In der Tabelle werden die von Prof. Hirschwald[1]) gemessenen Krystalle bei gleicher Aufstellung wie die von

[1]) Brieger, Ptomaine, II. Theil, S. 37.

mir gemessenen zum Vergleich angeführt. Nach Hirschwald's Aufstellung würde sich aus seinen Winkeln das Axenverhältniss a : b : c = 0,7454 : 1 : 0,8273 berechnen, während er a : b : c = 0,827272 : 1 : 1,3416 angibt.»

Eine Platinbestimmung dieser gemessenen Krystalle gab mir folgendes Resultat:

0,2224 gr. Substanz gaben 0,0827 gr. Pt. = 37,14 %.

Gefunden:	Berechnet für $C_5H_{12}(NH_2HCl)_2PtCl_4$:
37,14 %	37,01 %.

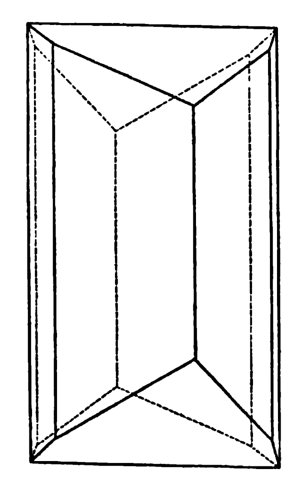
Die durch Zerlegung mit Schwefelwasserstoff wiedergewonnene Salzsaureverbindung, mit Platinchlorid behandelt, gab wieder rhombische, aber kleinere Krystalle.

Die Krystallmessungen des Platindoppelsalzes meiner Substanz stimmen also mit den erwähnten Angaben Hirschwald's für das Platinat des Pentamethylendiamins überein. Dagegen die Platinwerthe sind verschieden. Der Fall, wie man sieht, ist schwer zu erklären. Es blieb nur übrig, zu entscheiden, ob das Chloroplatinpentamethylendiamin wirklich in Rhomben krystallisirt. Um den Punkt zu erklären, habe ich eine Portion reines Dibenzoylpentamethylendiamin, welches bei 130,5° schmolz, durch Salzsäure und Alkohol verseift, und die erhaltene Salzsaurebase in Alkohol gelöst und mit alkoholischem Platinchlorid versetzt. Der Niederschlag wurde in heissem Wasser gelöst und diese Lösung über Schwefelsäure zum Erkalten und Verdunsten einigen Tagen überlassen. Die so erhaltenen 2—3 Milimeter langen Krystalle sind durch die Güte von Herrn Prof. Bücking in seinem Laboratorium durch Herrn J. Feuer untersucht, dessen Angaben ich hier folgen lasse.

«Salzsaurespentamethylenaminplatinchlorid.

Krystallsystem: Rhombisch:
a : b : c = 0,8606 : 1 : 0,6392.

Beobachtete Formen:
$m = \infty P \{110\}, \; d = \bar{P}\infty \{101\} \; \infty\breve{P}_2 \{120\}$.



Die kleinen, braungelben Kryställchen sind ringsum ausgebildet. Vorherrschend entwickelt ist das primäre Prisma ∞ P, nach welchem die Kryställchen etwas gestreckt erscheinen. $\infty \breve{P}_2$ stumpft nur ganz schmal die Kanten (110) : ($\bar{1}$10) u. (1$\bar{1}$0) : ($\bar{1}\bar{1}$0) ab. Die Reflexe in der Domenzone waren gut; der Beobachtungsfehler kann hier 10′ nicht überschreiten, da die Ausdehnung keines Reflexes mehr betrug. Weniger befriedigend waren die Reflexbilder in der Prismenzone, doch liessen sich auch hier die Winkel, namentlich von ∞ P mit Sicherheit messen

Winkeltabelle.

	Gemessen.	Berechnet.	Zahl der Messungen.
110 : 1$\bar{1}$0	*81° 26′	—	2
101 : $\bar{1}$01	*73° 12′	—	3
101 : 110	63° 20′	63° 8′	3
120 : $\bar{1}$20	60° 17′	60° 20′	2

Auf Grund der krystallographischen Messungen müsste man also diese zuletzt gemessenen Krystalle als identisch mit dem früher gemessenen betrachten, wenigstens lässt sich die **Verschiedenheit** beider nicht mit Bestimmtheit nachweisen. Das Axenverhältniss ist nämlich bei beiden nahezu gleich und die gefundene Differenz könnte sich bei verschiedenen Krystallisationen ein und derselben Substanz auch unregelmässiger Ausbildung und aus Beobachtungsfehlern ergeben haben. Diese letztere Erwägung gewinnt dadurch an Gewicht, dass bei den Messungen der früher erhaltenen Krystalle die Reflexe viel zu wünschen übrig liessen. Andernfalls läge eine Isogonie (bezw. Isomorphie) vor».

Nach diesen Angaben sind die Krystalle des Chlorplatinpentamethylendiamins isomorph mit denen durch Hirschwald analysirten, und mit dem Chlorplatin-Krystalle der von mir dargestellten Substanz.

Da die erwähnten Untersuchungen für die Sicherstellung des Körpers $C_6H_{16}N_2$ nicht ausreichend sind, so habe ich weiter versucht, Verbindungen desselben mit Goldchlorid und Pikrinsäure darzustellen. Sehr auffallend ist es aber, dass Goldchlorid weder mit alkoholischen noch mit wässerigen Lösungen der Substanz einen Niederschlag hervorruft. Mit Pikrinsäure gibt der Körper eine Verbindung, welche in Wasser und absolutem Alkohol leicht löslich ist. Dieselbe krystallisirt in Nadeln und Blättchen, bräunt sich über 200° C. und zersetzt sich bei 210°, so dass der Schmelzpunkt nicht bestimmt werden konnte. Das Pikrat des Cadaverins schmilzt nach Böcklisch[1]) bei 221°.

Die grosse Löslichkeit des Pikrats und die geringe Menge der zur Verfügung stehenden Base haben mich verhindert, die Zusammensetzung des pikrinsauren Salzes durch Elementaranalysen weiterhin zu bestimmen. Ich hoffe später grössere Quantitäten der Substanz darstellen zu können, um diese Lücke auszufüllen.

Der Umstand, dass der Körper keine Verbindung mit Goldchlorid giebt, lässt an den Körper denken, welchen Brieger[2]) bei der Verarbeitung von Leichentheilen gewann und welchen er als Saprin bezeichnete. Die Zusammensetzung des Saprins ist nach Brieger $C_5H_{16}N_2$; enthält daher einen C-Atom weniger als meine Base. Die Eigenschaften beider Körper stimmen aber überein, und so sind sie als Platindoppelsalze leicht löslich in Wasser, schwer in starkem Alkohol; ihre salzsauren Salze zerfliessen nicht an der Luft und haben die erwähnte Eigenschaft, dass sie mit Goldchlorid keine Verbindung zeigen.

Wir haben es also, so weit die angegebenen Kennzeichen uns lehren, mit einem Körper zu thun, welcher neben Tetramethylendiamin bei Fäulniss entsteht. Die weiteren Eigenschaften und Constitution desselben werden nur durch weitere Untersuchungen, welche ich mir vorbehalte, fest-

---

[1]) Brieger, Ptomaine, III. Theil, S. 59.

[2]) Derselbe, II. Theil, S. 46.

gestellt. A priori kann man aber sagen, dass eine Base, welche die zwei genannten Diamine begleitet und welche sich durch ein plus von einem C und zwei H von Pentamethylendiamin, und durch ein plus von zwei C und vier H von Tetramethylendiamine unterscheidet, eine ähnliche Constitution zukommen kann als die dieser Basen.

Die gefundenen Differenzen zwischen dem Pentamethylendiamin und der von mir beschriebenen Base sind begründet auf der Verschiedenheit des Schmelzpunktes der Benzoylverbindungen, den Gehalt an Kohlenstoff und an Stickstoff, der Verschiedenheit in dem Aussehen der Krystalle des Platindoppelsalzes; dagegen haben die Krystallmessungen dieser Platinchloridverbindung keine sichere Unterscheidung in den Winkeln ergeben. Bei dieser Sachlage wird es zweckmässig sein, bis zur sicheren Entscheidung der bestehenden Zweifel (weitere Bearbeitung behalte ich mir vor) den C-reicheren Körper als ein Hexamethylendiamin vorläufig aufzufassen.

Ueber Ptomaine, welche bei der Fäulniss von Pferdefleisch und Pankreas entstehen.

Von

Dr. S. Adeodato Garcia aus Santiago de Chile.

(II. Mittheilung.)

(Der Redaction zugegangen am 20. November 1892.)

Die Untersuchungen von Hirschler[1]) über den Einfluss der Kohlehydrate und einiger anderer Körper der Fettsäurereihe auf die Eiweissfäulniss haben gelehrt, dass die Bildung der aromatischen Fäulnissproducte der Eiweisse, d. h. des Indol, Phenol und Oxysäuren, ausserhalb des Organismus unter den günstigsten Verhältnissen für die Eiweissfäulniss ausbleibt, wenn Kohlehydrate zugegen sind, auch wenn man für die Neutralisation der vorhandenen oder gebildeten Säuren Sorge getragen hat.

Ausser Indol, Phenol und Oxysäuren entstehen wie bekanntlich bei der Eiweissfäulniss noch diejenigen Körper, die man als Ptomaine bezeichnet hat. Es war also von Interesse, zu erfahren, ob auch die Bildung dieser Körper ausbleibt in der Eiweissfäulniss, bei Anwesenheit von Kohlehydrate und unter denselben Bedingungen und Cautelen, welche Hirschler ins Auge gefasst hat.

Auf Veranlassung von Herrn Prf. F. Hoppe-Seyler habe ich in dieser Richtung Untersuchungen angestellt, für dessen Anregung und hochgeschätzter Leitung sei es mir hier gestattet, ihm meinen besonderen Dank auszusprechen.

---

[1]) Hirschler, diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 306.

Wie ich in meiner ersten Mittheilung[1]) flüchtig hervorgehoben habe, sind die Körper, welche man als Fäulnissproducte der Eiweissstoffe (Ptomaine) beschrieben hat, sehr verschieden und zahlreich. Von diesen Substanzen haben sich bis jetzt das Cadaverin und Putrescin Brieger's[2]) als sicher vorkommend erwiesen. Man weiss, dass alle diese Körper Verbindungen mit Platinchlorid eingehen, deshalb war der erste Gedanke, die Quantität der gebildeten Ptomaine mittelst Platinchlorid zu bestimmen nach der von Brieger angegebenen Methode. Hierbei blieb natürlich nicht ausgeschlossen, eine weitere Untersuchung über die Qualität der gewonnenen Platindoppelsalze, welche, wie bekanntlich, sehr schwer von einander zu trennen sind, auszuführen. Wie man weiter unten erfahren wird, veranlasste mich die Kenntniss einer neuen und einfachen Methode, diesen ersten eingeschlagenen Weg nicht weiter zu verfolgen; diese neue Methode besteht in der Bildung in Wasser unlöslicher Verbindungen aller Diamine mit dem Benzoylchloridrest beim Schütteln ihrer wässerigen Lösung mit starker Natronlauge und Benzoylchlorid.

Nach den Untersuchungen Brieger's ist allgemein bekannt, dass, wenn man Fleisch der Verwesung überlässt, eine reichlichere Ausbeute von Ptomaine sich erzielen lässt, als bei der Fäulniss anderer Substanzen. Die Fäulniss von Fleisch geht noch rascher und stärker vor sich, wenn man die Muskeln mit Pankreas verwesen lässt, wie es Nencki[3]) mit dem Fibrin und Eiweiss zuerst that.

Bei meinen Untersuchungen wurde die von Hirschler[4]) angegebene Versuchsanordnung gewählt, d. h. ich stellte mir Fleisch- und Pankreasextracte dar, welche natürlich weniger Eiweissstoffe als das extrahirte Material enthalten, ein grosser Nachtheil für die Aussichten der Versuche, aber welche eine

---

[1]) García, diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 541.

[2]) Brieger, Ptomaine, 3 Theile, 1885—86.

[3]) Nencki, Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisse bei der Fäulniss mit Pankreas, Bern 1876.

[4]) Hirschler, l. c.

gleichmässigere Zusammensetzung haben als Flüssigkeiten, in welchen man Fleisch und Pankreasstücke (vergleiche weiter Seite 563 die Ausbeute von Versuchen X und J und daselbst das verwendete Material) gebracht hat. In dieser Form war die zu erreichende Ausbeute ärmer als in der umgekehrten Weise, aber der Versuch blieb so einwandsfrei.

Die Versuchsflüssigkeiten wurden nach der Hirschler-schen Methode hergestellt. Ein Probeversuch wurde folgendermassen bereitet und bearbeitet.

250 gr. fein zerhacktes Pferdefleisch wurden für sich eine Stunde mit 400 cbcm. destillirtem Wasser unter öfterem Umrühren stehen gelassen. Eine der Fleischportion, ungefähr die gleiche Quantität, von einem sorgfältig abpräparirten und fein zerhacktem Rindspankreas wurde auch mit 400 cbcm. destillirtem Wasser in derselben Weise wie das Fleisch behandelt. Nach einer Stunde wurden die zwei Breimassen getrennt, durch Leinwand filtrirt und ausgepresst. Mit diesen so gewonnenen Fleisch- und Pankreasextracten wurde eine Mischung hergestellt, welche

200 cbcm. Fleischauszug
200 » Pankreasauszug
400 » destillirtes Wasser und
20 gr. Calcium-Carbonat

enthielt. 2 gleiche Kolben (500 cbcm. Inhalt mit A und B bezeichnet), wurden mit je einer Hälfte obiger Mischung gefüllt, in ein grosses Wasserbad gebracht und auf einer Temperatur von 30°—32° C. während 6 Tage unter öfterem Umschütteln der Fäulniss überlassen. Kolben A erhielt ausserdem 16 gr. Rohrzucker.

Nach der angegebenen Zeit wurden die zwei Kolben aus dem Wasserbad herausgenommen, in eine Wanne mit siedendem Wasser gebracht, bis die Temperatur der Flüssigkeit in den Kolben constant wurde und warm filtrirt. Diese Operation geht aber sehr langsam von statten, besonders bei den Flüssigkeiten, in welchen Zucker hinzugesetzt ist. Die erhaltenen Filtrate wurden dann nach der Brieger-schen Methode mit Salzsäure schwach angesäuert und auf

dem Wasserbad bis zur Sympconsistenz eingedampft[1]). «Der «eingedampfte dickflüssige Syrup wird mit 96procentigem «Alkohol aufgenommen, das Filtrat mit warmer alkoholischer «Bleiacetatlösung versetzt. Vom Bleiniederschlage wird ab-«filtirt, zum Syrup eingedampft und dieser noch einmal «mit 96procentigem Alkohol erschöpft. Dieser Alkohol wird «nun verjagt, mit Wasser aufgenommen, das Blei durch «Schwefelwasserstoff entfernt und die Flüssigkeit mit wenig «Salzsäure zur Syrupconsistenz eingeengt. Dieser Syrup wird «mit Alkohol erschöpft und mit alkoholischer Quecksilber-«chloridlösung gefällt.»

Der Quecksilberchloridniederschlag wurde mit Wasser ausgekocht, filtrirt, Filtrat mit Schwefelwasserstoff zerlegt, filtrirt, Filtrat auf dem Wasserbade eingeengt und mit der aus dem Quecksilberchlorid gewonnenen Ptomainlösung zusammengemischt. (Siehe unten).

«Das Quecksilberfiltrat, von Alkohol und Quecksilber «befreit, wird eingedampft, wobei die überschüssige Salz-«säure durch Soda sorgsam abgestumpft wird» — bis zur schwachen sauren Reaktion — «alsdann wird nochmals mit Al-«kohol erschöpft, um die anorganischen Bestandtheile möglichst «abzutrennen. Der alkoholische Rückstand wird in Wasser «gelöst, die Salzsäure durch Soda gebunden und mit Salpeter-«säure angesäuert, alsdann mit Phosphormolybdänsäure ver-«setzt. Die abfiltrirte Phosphormolybdänsäuredoppelverbindung «wird durch neutrales Bleiacetat zerlegt, welche Manipulation «man durch kurzes Erhitzen auf dem Wasserbade be-«schleunigen kann.»

Nach Entfernung des Bleies durch Schwefelwasserstoff wurde die Flüssigkeit auf ein kleines Volumen eingeengt, nach schwachem Ansäuern mit Salzsäure und mit der vorher gewonnenen Lösung (siehe oben) zusammengemischt.

Die Endlösungen beider Versuche A und B wurden mit Platinchlorid versetzt auf dem Wasserbad bis zur Trockne verdampft, der Niederschlag erst mit Alkohol, dann mit Aether

[1]) Brieger, l. c., III. Theil, S. 21—22.

auf einem vorher gewogenen Filter gewaschen. Das auf 100° C. getrocknete Platingemeng wog nur einige Milligramm.

Dieser Probeversuch mit Flüssigkeitsquantitäten, wie oben angegeben worden ist, zeigt, dass die angewendeten Mengen ungenügend sind in Folge des grossen Verlustes, welchen man durch die complicirte Methode erleidet, um ein sicheres Criterium zu gewinnen. Es wurden deshalb die Untersuchungen mit zwei Mal so grossen Portionen fortgesetzt, als sie Hirschler anwendete, und zu derselben Zeit zwei gleiche Versuche angestellt wie folgt.

Versuche I—II.

500 gr. zerhacktes Pferdefleisch und 500 gr. fein zerkleinert abpräparirtes Rindpankreas wurden je mit 800 cbcm. Wasser eine Stunde, wie oben erwähnt, für sich stehen gelassen.

Mit den erhaltenen Flüssigkeitsextracten wurden vier Kolben (1 Liter Inhalt) gefüllt. Jeder Kolben erhielt

200 cbcm. Fleischextract,
200 » Pankreasextract,
400 » Wasser,
40 gr. Calcium-Carbonat.

Zwei Kolben wurden mit I-A und I-B und die zwei anderen mit II-A und II-B bezeichnet. Kolben I-A und II-A erhielten ausserdem je 32 gr. Rohrzucker. Nach sechstägigem Stehen der vier Kolben im Wasserbad auf 30° C. Temperatur wurden die Versuchsflüssigkeiten in der angegebenen Weise behandelt.

Zu dieser Zeit wurde die Arbeit über Gewinnung von Pentamethylen- und Tetramethylendiamin als Dibenzoylverbindungen durch Baumann und v. Udránszky[1]) veröffentlicht. Ich habe diese Methode angewendet, als die Lösungen nach der Brieger'schen Methode bereit waren, mit Platinchlorid die Ptomaine gefällt zu werden. Die Lösungen der Ptomaine, welche durch Quecksilberchlorid

[1]) Baumann und v. Udránszky, Berichte der deutschen chem. Gesellschaft 1888, S. 1744 u. 2938.

niedergeschlagen, und die Lösungen der anderen Ptomaine, welche aus dem Quecksilberchloridfiltrat gewonnen waren, wurden bei demselben Versuche zusammengemischt, auf dasselbe kleine Volumen in den vier Versuchen eingeengt und jede so erhaltene Lösung mit 40 cbcm. Natronlauge (10 °/₀) und 4 cbcm. Benzoylchlorid so lange geschüttelt, bis der Geruch nach diesem verschwunden war. In den Versuchen I-A und II-A wurde zuerst untersucht, ob noch Zucker vorhanden war. Eine kleine Probe der Lösungen mit Schwefelsäure gekocht, dann mit Natronlauge und Kupfersulfalt geprüft, ergab ein negatives Resultat. Diese Prüfung zeigt, dass der Zucker nach der sechstägigen Fäulniss vollständig umgewandelt war.

Die von Flüssigkeit abfiltrirten Benzoylniederschläge wurden in warmem Weingeist gelöst und mit viel Wasser gefällt. Nach der dritten Krystallisation wurden die gewonnenen Benzoylgemenge bei 100° getrocknet und dann gewogen. Das Benzoylfiltrat wurde auch für sich auf weitere Mengen von Benzoylverbindungen mittelst Ansäuren durch Schwefelsäure, wiederholtes Schütteln mit Aether und Fällung der eingeengten ätherischen Lösung durch 12 °/₀ Natronlauge untersucht. Aus diesem Benzoylfiltrat sind nur sehr geringe Quantitäten von Benzoylverbindungen gewonnen, wesshalb dasselbe in den weiteren Versuchen nicht mehr berücksichtigt worden ist. Vielleicht verursacht die Concentration der mit Benzoylchlorid geschüttelten Lösungen so wie die verhältnissmässig grosse Menge des angewendeten Reagenz eine fast vollständige Ausfällung der vorhandenen Diamine.

Die gewonnenen Benzoylverbindungen gaben nach dem Trocknen folgende Gewichtsmenge:

Versuch I.

Benzoylgemeng aus der Portion I—A = 0,146 gr.
» » » » I—B = 2,040 »

Versuch II.

Benzoylgemeng aus der Portion II—A = 0,145 gr.
» » » » II—B = 1,605 »

Diese Zahlen zeigen ganz deutlich, dass in den Verwesungsflüssigkeiten I—A und II—A, in welchen Rohrzucker

hinzugesetzt wurde, eine starke Verminderung der Ptomainbildung stattgefunden hat, wenn man die erhaltenen Benzoylgemenge ausschliesslich als Benzoylverbindungen der Ptomaine betrachtet. Nach dem Gesagten blieb also noch zu untersuchen, was für Körper diese Benzoylgemenge bildeten. Davon nachher.

Versuche III—IV.

Diese Versuche wurden in derselben Weise wie I und II angestellt. Nachdem die Kolben III A, III B, IV A und IV B im Wasserbad bei 30° C. 6 Tage lang gestanden hatten, wurden sie herausgenommen, in siedendes Wasser gebracht, dann filtrirt, auf dem Wasserbad eingeengt und der so erhaltene Syrup mit 96 proc. Alkohol verschiedene Male extrahirt. Das alkoholische Extrat wurde alsdann destillirt, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, und die erhaltene wässerige Lösung filtrirt, dann auf dem Wasserbad bis auf ein kleines Volumen (auf das gleiche bei allen vier Versuchen) eingeengt, und jede Lösung mit je 40 cbcm. 10 proc. Natronlauge und 5 cbcm. Benzoylchlorid in der bekannten Weise geschüttelt. Die nach der dritten Umkrystallisation aus Wasser getrockneten Benzoylgemenge gaben gewogen folgende Werthe:

Versuch III.

Benzoylgemeng aus der Portion III—A = 1,093 gr.
» » » » III—B = 1,870 »

Versuch IV.

Benzoylgemeng aus der Portion IV—A = 0,970 gr.
» » » » IV—B = 1,912 »

Auch Versuche III—A und IV—A zeigten vor der Benzoylirung keine Spur von Zucker.

Bei der Bearbeitung der Versuchsflüssigkeiten in der eben geschilderten Weise wurde eine Zeitersparniss gegenüber der Methode von Brieger gewonnen, dagegen trat hier ein Uebelstand zu Tage, welcher bei den Versuchen I und II nicht eingetreten war, nämlich die Bildung einer öligen Masse, welche den krystallinischen Niederschlag der Ptomaine mit sich zu Boden reist und auf dem Boden fest haftet, besonders bei den Versuchen, die Rohzucker erhielten.

Nach dem wiederholten Umkrystallisiren aus Wasser verschwindet diese Masse nach und nach. In den Versuchen III—A und IV—A blieben die Massen nach dem dritten Umkrystallisiren noch deutlich verunreinigt, daher die etwas höheren Werthe mit denen der vorigen Versuche verglichen.

Um die Zusammensetzung der Fäulnissproducte, welche eine Verbindung mit dem Benzoylrest geben, zu untersuchen, wurde ein besonderer Nebenversuch angestellt. Damit wurde bezweckt, die gewonnenen Benzoylgemenge intact zu erhalten für den Fall, dass eine solche Untersuchung missglücken würde oder, was zu erwarten war, dass sie mit vielem Verluste geknüpft wäre. In dieser Weise blieb mir ferner das Material erhalten für die Untersuchung auf die Quantität der verschiedenen Benzoylptomaine in den einzelnen Versuchen. Es wurde auch bedacht, dass die kleinen Mengen von nur wenig über 1 gr. der Benzoylniederschläge, die aus den beschriebenen Versuchen gewonnen waren, ungenügend sein konnten, um bei einer Trennung der zwei oder drei, vielleicht auch noch mehrerer Benzoylptomaine, die man in dem Gemenge zu finden hoffte, von einander wägbare Quantitäten zu erzielen. Deshalb wurden zu gleicher Zeit zwei grosse Versuche angestellt, die diesen Uebelstand vermieden.

Versuche V—VI und Nebenversuche.

Am 8. December 1890 wurden 3000 gr. Pferdefleisch und 4 Rindpankreas (wie beschrieben bereitet), mit je 6400 cbcm. Wasser zwei Stunden unter öfterem Umrühren stehen gelassen. Alsdann wurden die Extracte durch Leinwand filtrirt und ausgepresst. 4 Kolben von etwas über vier Liter Inhalt und mit V—A, V—B, VI—A und VI—B bezeichnet, erhielten am 8., 8 Uhr P. M., je:

1600 cbcm. Fleischextract,
1600 » Pankreasextract,
80 gr. Calcium-Carbonat.

Kolben V—A und VI—A erhielten ausserdem je 128 gr. Rohrzucker. Um 1 Uhr P. M. des folgenden Tages wurden sämmtliche Flaschen im Wasserbad auf 30° C. gebracht.

Nebenversuch. Das extrahirte Fleisch wurde am 9. mit 3500 und das extrahirte Pankreas mit 2700 cbcm. Wasser 12 Stunden stehen gelassen. Mit den gewonnenen Extracten wurden zwei grosse Kolben gefüllt.

Kolben X erhielt:
1268 cbcm. Fleischextract,
1082 » Pankreasextract,
60 gr. Calcium-Carbonat.

Kolben J erhielt:
582 cbcm. Fleischextract,
410 » Pankreasextract,
188 gr. extrahirtes Fleisch,
178 » » Pankreas,
25 » Calcium-Carbonat.

Nach 7tägiger Verwesung bei 30° C. im Wasserbad der Versuche X und J wurden die zwei Kolben in siedendes Wasser gebracht, dann filtrirt und das Filtrat auf dem Wasserbad bis zur Syrupconsistenz eingedampft. Die syrupösen Massen wurden zuerst mit 96 procentigem Alkohol und gleichen Theilen Aether, dann mit Alkohol mehrere Male extrahirt. Der alkoholätherische und der alkoholische Auszug wurden jeder für sich abdestillirt, die Rückstände mit Wasser aufgenommen, die wässerigen Lösungen desselben Versuches zusammengemischt, auf ein kleines Volumen im Wasserbad eingeengt und gleich mit 80 cbcm. 10proc. Natronlauge und 10 cbcm. Benzoylchlorid unter guter Abkühlung so lange geschüttelt, bis zum Verschwinden des Benzoylchloridgeruches. Die so erhaltenen Benzoylgemenge wurden in der bekannten Weise drei Mal umkrystallisirt, getrocknet und gewogen. Die Resultate waren folgende:

Benzoylgemeng aus Versuch X = 2,058 gr.
» » » J = 3,140 ».

Diese letzte Ausbeute wurde zuerst zur Trennung der benzoylirten Ptomaine benutzt.

Nach den Untersuchungen Brieger's und Böcklisch's[1]) war zu erwarten nicht weniger als vier Ptomaine in Ver-

[1]) Brieger, Ptomaine, 1885--86.

bindung mit dem Benzoylrest zu gewinnen. Von diesen Ptomainen mussten sicher Cadaverin und Putrescin da sein. Sollten auch das Neuridin, $C_5H_{14}N_2$ und das Saprin, $C_5H_{16}N_2$ wirklich bei der Fäulniss des Fleisches vorkommen, so war höchstwahrscheinlich, dass diese Körper in Folge ihrer Constitution eine Verbindung mit dem Benzoylrest geben würden.

Baumann und v. Udránszky[1]) haben eine Methode beschrieben, die sie zur Trennung des Dibenzoylpentamethylendiamins vom Dibenzoyltetramethylendiamin anwendeten und welche sich auf die schwere Löslichkeit der letzteren Benzoylverbindung in Aether stützt. Ich suchte in folgender Weise auch eine Trennung zu erzielen.

Die 3,140 gr. Benzoylgemenge des J-Versuches wurden in möglichst wenig warmem Weingeist gelöst und mit der 30fachen Menge Aether gemischt. Nach 24stündigem Stehen an einem kühlen Orte wurde der entstandene Niederschlag abfiltrirt, in Alkohol gelöst und die Lösung ins Wasser gegossen. Der gewonnene Niederschlag, bei 100° C. getrocknet und gewogen, gab eine Gewichtsquantität von 0,08 gr., schmolz bei 175° und war demnach die Dibenzoylverbindung des Putrescins, welche bei 175° nach den Angaben Baumann's und v. Udránszky's schmilzt.

Das ätherische Filtrat wurde abdestillirt, der Rückstand in Weingeist gelöst und mit Wasser gefällt. Der bei 100° getrocknete Niederschlag zeigte keinen einheitlichen Schmelzpunkt: er sinterte bei 121° und war vollständig geschmolzen erst bei 135°; es war also in dem Gemenge immer noch eine Substanz, welche höher als Benzoylpentamethylendiamin schmilzt, vorhanden. Das Benzoylgemenge wurde desshalb nochmals mit etwas weniger Aether behandelt; so wurden zwei Portionen gewonnen, von welchen die eine (Aetherrückstand) bei 172° schmolz und die Andere (aus Aetherfiltrat) wieder bei 121° sinterte und bei 132° vollständig schmolz. Es war hier sicher ein Gemenge noch vorhanden. Eine Tren-

[1]) Baumann und v. Udránszky, diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 566.

nung durch Benzol, Aceton, Petroläther, Acetessigäther, Chloroform und andere Lösungsmittel wurde nicht erzielt.

Der Gedanke, dass ausser Dibenzoylpentamethylendiamin noch Benzoesäure in dem Gemenge sein könnte, liess mich eine Entfernung derselben durch warmes Wasser hoffen. Das Gemeng wurde desshalb in etwas Weingeist gelöst, mit dem 30fachen destillirten Wasser gefällt, auf dem Wasserbad bis auf 90° erwärmt und auf dieser Temperatur eine Stunde digerirt. Die milchige Flüssigkeit klärte sich nach und nach und auf der Oberfläche bildete sich eine Schicht von feinen glänzenden Blättchen. Die warme, durch Asbest und mittelst einer Wasserstrahlpumpe rasch filtrirte Flüssigkeit, trübte sich gleich und nach dem Erkalten zeigte sich eine in feine Nadeln und Blättchen krystallisirte Substanz, welche bei 124°—129° schmolz. Der auf dem Filter zurückgehaltene Niederschlag in Alkohol gelöst und mit Wasser gefällt ergab einen Schmelzpunkt von 174°; war in Folge dessen fast reines Dibenzoyltetramethylendiamin.

Die bei 124°—129° schmelzende Substanz wurde wieder in Alkohol gelöst, mit Wasser gefällt, im Wasserbad auf 80° C. erwärmt und bei dieser Temperatur eine halbe Stunde digerirt. Die aus dem Filtrate erhaltene Benzoylverbindung schmolz jetzt genau bei 126°. Der im Wasser unlösliche Theil dagegen bei 130°.

Die Dibenzoylverbindung, welche bei 126° schmolz, wurde getrocknet und gewogen. Mit den gewonnenen 0,6105 gr. wurden zwei C- und H-Analysen und zwei N-Bestimmungen ausgeführt. über deren Resultate schon in meiner obigen ersten Mittheilung berichtet worden ist[1]).

Mit dem aus dem Versuche X erhaltenen Material wurden weitere Untersuchungen der niedrig schmelzenden Benzoylverbindung vollzogen. Hier wurde die Trennungsmethode, die ich in der erwähnten Mittheilung beschrieben habe[2]) und welche als die beste sich bewährt hat, eingeschlagen. In der

[1]) Garcia, l. c., S. 547—548.
[2]) Derselbe, l. c., S. 546—547.

Weise wurde eine Benzoylverbindung gewonnen, deren Schmelzpunkt constant bei 125°—125,5° blieb. Sie wurde durch Salzsäure und Alkohol verseift und mit dem salzsauren Salz die Platindoppelverbindung dargestellt. Die für C, H, N und Pt. erhaltenen Werthe lassen für die Substanz die Formel $C_6H_{16}N_2$ berechnen, ich habe sie mit dem Namen Hexamethylendiamin vorläufig bezeichnet. Neben ihr sind bei den Versuchen X und J nur zwei Benzoylverbindungen vom Schmelzpunkt 130° und resp. 175° gefunden, sie können desshalb keine anderen Körper als das Dibenzoylpentamethylendiamin und das Dibenzoyltetramethylendiamin sein.

Diese Versuche beweisen also deutlich, dass bei der Fäulniss von Fleische bei Anwesenheit von Pankreas nur das Hexamethylendiamin, das Cadaverin und das Putrescin sich bilden. Wie ich vorher citirt habe, sind von Brieger das Saprin und von Brieger und Böcklisch das Neuridin bei der Fäulniss von Cadaverorganen (Saprin), Fleisch und Barschfleisch (Neuridin) als vorkommend angegeben. Wenn diese Körper in meinem Versuche zugegen gewesen wären, würden sie wohl in Folge ihrer Diaminconstitution eine Verbindung mit dem Benzoylrest gegeben haben, was nicht der Fall gewesen ist.

Aus dem Gesagten wird man auch bemerkt haben, dass die Trennung der drei vorhandenen Benzoylsubstanzen quantitativ nicht zu erreichen ist. Baumann und v. Udránszky haben eine glatte Trennung des benzoylirten Cadaverin und Putrescin mit Aether erzielt, aber diese Forscher haben selbst bemerkt[1]) dass, wenn auch Benzoylputrescin in Aether fast unlöslich ist, es sich darin löst, wenn Substanzen, welche sehr löslich in Aether sind, wie z. B. Benzoesäure, zugegen sind. Meine Substanz löst sich gut in Aether, und das wird die Ursache sein, wesshalb Benzoylputrescin sich in Aether löst, wenn sie zugegen ist. Wenn man in Folge dessen die Trennung des Gemenges mit Aether und warmem Wasser erreichen will, muss man die Behandlung oftmals wiederholen, was viel Verlust verursacht.

---

[1]) Baumann und v. Udránszky, diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 365.

Nachdem festgestellt war, dass das Benzoylgemeng nur aus diesen drei erwähnten Verbindungen besteht, wurden die Versuche V und VI weiter bearbeitet. Diese Versuche, welche am 14. December, 10 Uhr A. M., d. h. nach fünftägiger Fäulniss, aus dem Wasserbade herausgenommen waren, wurden in derselben Weise wie Versuche X und J bearbeitet. Die gewonnenen wässerigen Endlösungen wurden bei den vier Versuchen auf dasselbe Volumen eingeengt und mit 80 cbcm. 10proc. Natronlauge und 10 cbcm. Benzoylchlorid wie sonst geschüttelt. Die Benzoylniederschläge wurden wie früher drei Mal umkrystallisirt, aber hier waren die öligen Massen in grösserer Menge vorhanden. In der Meinung, sie könnten Verbindungen von Kohlehydraten sein, habe ich das Gemeng in Weingeist gelöst, auf dem Wasserbad in einem Kolben die Lösung erwärmt, Wasser in kleinen Portionen hinzugesetzt und auf 95° erhitzt. Bei dieser Behandlung ging ein Theil der Benzoyldiamine in Lösung, während die ölige Masse und ein kleiner Theil der Diamine ungelöst blieben. Filtrirt man jetzt die Flüssigkeit durch Asbest warm und rasch mittelst der Wasserluftpumpe, so erzielt man eine Reinigung der Ptomaineverbindungen. Die zwei- oder dreimalige Wiederholung der Operation erlaubt die fast vollständige Entfernung der öligen Masse. Dass dieser Körper durch kochendes Wasser nicht zerstört wird, spricht gegen die Annahme, er sei eine Benzoylverbindung irgend eines Kohlehydrats. Ich glaube in der nächsten Zeit eine Untersuchung dieser Verbindung anstellen zu können.

Die in der angegebenen Weise gereinigten Benzoyldiamine wurden nochmals aus dem Wasser umkrystallisirt, dann getrocknet und gewogen.

Die Wägung gab folgende Resultate:

Versuch V.

Benzoylgemeng aus dem Versuch V—A = 1,926 gr.
» » » » V—B = 3,298 »

Versuch VI.

Benzoylgemeng aus dem Versuch VI—A = 2,461 gr.
» » » » VI—B = 4,484 »

Auch hier ist die Hemmung der Ptomainebildung in den Versuchen, welche Kohlehydrate erhielten, sehr deutlich, und auch hier sind die Werthe der Versuche V—A und VI—A etwas höher in Folge der Verunreinigung, welche besonders den Zuckerlösungen anhaftet.

Die Trennung der einzelnen Benzoylverbindungen durch Aether und warmes Wasser wurde das erste Mal nicht erzielt, und da diese Operation viel Zeit in Anspruch nimmt, so habe ich mich entschlossen, die Publikation der gewonnenen Resultate nicht länger zu verzögern, um so mehr, als diese Versuche in Folge der chilenischen Revolution vom vorigen Jahre und noch durch andere unüberwindliche Umstände fast zwei Jahre unterbrochen werden mussten.

Soviel lässt sich aber jetzt mittheilen, nämlich: 1. dass bei der Fäulniss von Fleisch und Pankreas bei An- und Abwesenheit von Kohlehydraten (Zucker) sich dieselben Diamine bilden; 2. dass die Bildung dieser Körper fast auf die Hälfte sinkt, wenn Kohlehydrate zugegen sind.

Schon Hirschler[1]) hat die Hypothese aufgestellt, «dass die Gegenwart von Stoffen, die noch leichter als die Eiweissstoffe durch Fäulniss verändert werden, die Eiweissfäulniss beeinträchtigen.» Hirschler glaubt ferner, dass die Spaltpilze, welche sich bei der Fäulniss der Kohlehydrate fortpflanzen, «die die Eiweissstoffe zersetzenden Spaltpilze direct nachtheilig beeinflussen;» und dass Substanzen, wie z. B. milchsaurer Kalk im Stande seien, die Bildung von aromatischen Körpern bei der Eiweissverwesung fast vollständig aufzuheben[2]).

Eine Erklärung, in welcher Weise die Hemmung der Eiweissfäulniss bei Anwesenheit der erwähnten Stoffe stattfindet, bedarf weiterer Untersuchungen. Es läst sich der Vorgang, besonders was die Diaminbildung anbetrifft, jetzt noch nicht genügend erklären, da man bis jetzt nicht weiss,

---

[1]) Hirschler, l. c. S. 307.
[2]) Derselbe, l. c. S. 313.

in welcher Weise diese Diaminbildung hervortritt, und aus welcher Substanz oder aus welchen Substanzen die fraglichen Ptomaine ihren Ursprung nehmen. Ob da Oxydationsprocesse wie Baumann und v. Udránszky[1]) es andeuten, oder Reductionsvorgänge sich abspielen, lässt sich bis jetzt noch nicht mit Bestimmtheit sagen.

[1]) Baumann und v. Udránszky, l. c., S. 591.

Ueber Ptomaine.

Von

Dr. S. Adeodato Garcia aus Santiago de Chile.

(III. Mittheilung.)

(Der Redaction zugegangen am 13. Januar 1893.)

Es ist besonders von Brieger[1]) und Böcklisch[2]) die Meinung ausgesprochen worden, dass die Entstehung von Ptomainen in gefaulten Flüssigkeiten erst nach einigen Tagen hervortritt. Böcklisch äussert sich dahin, dass bei der Fischfäulniss sich «im Anfang Cadaverin findet, ohne von Putrescin begleitet zu sein..., dann gesellt sich bei längerer Dauer der Fäulniss Putrescin bei, allerdings anfänglich in nur geringer Menge, später überwiegt es aber das Cadaverin.»

Im Gegensatz zu dieser Lehre steht die Behauptung Verigo's[3]). Dieser Autor will in Pankreasextracten, bevor eine Fäulniss möglich ist, die Anwesenheit von Pentamethylendiamin entdeckt zu haben.

Ich habe auch in dieser Richtung einige kleine Versuche angestellt, deren Resultate ich hier folgen lasse, mit der Bemerkung, dass ich sie nächstens zu ergänzen gedenke.

Es war mir von Interesse, zu erfahren, zu welcher Zeit die Bildung der Diamine bei der Fäulniss von Fleisch und Pankreas ihren höchsten Punkt erreicht. Zu diesem Zweck habe ich folgenden Versuch angestellt:

1000 gr. mit der Maschine zerkleinertes Pferdefleisch und 500 gr. fein zerhackt und abpräparirtes Rindpankreas, —

[1]) Brieger, Berl. klin. Wochenschrift, 1887, Nr. 44; derselbe, Ptomaine, 1885—86.

[2]) Böcklisch, Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. XX, S. 1441; derselbe in der Brieger'schen Abh. über Ptomaine.

[3]) Verigo, Pflüger's Arch., Bd. 51, S. 362.

welche als frisches Material vom Markt bezogen waren, — wurden mit je 1200 cbcm. destillirtem Wasser unter wiederholtem Umrühren 12 Stunden stehen gelassen. Die Breimassen sind nach dieser Zeit durch Leinwand filtrirt und ausgepresst. Mit den so gewonnenen Extracten wurden sechs Kolben (500 cbm. Inhalt) gefüllt. Jeder Kolben erhielt:

200	cbcm.	Fleischextract
200	»	Pankreasextract
10	gr.	Calcium-Carbonat.

Sämmtliche mit Watte verschlossenen Kolben wurden in einem grossen Wasserbad bei 30° C. Temperatur der Fäulniss überlassen, unter möglichst häufigem Umschütteln.

Nach je 24 Stunden wurde eine Flasche vom Bade herausgenommen und in folgender Weise bearbeitet. Die filtrirte Flüssigkeit, mit wenig Salzsäure angesäuert, wurde gekocht und abermals filtrirt, Filtrat auf dem Wasserbad zur Syrupconsistenz eingeengt, die Syrupmasse mit 96 proc. Alkohol wiederholt extrahirt, alkoholischer Extract abdestillirt, Rückstand mit Wasser aufgenommen, wässerige Lösung im Wasserbad auf 30 cbcm. eingeengt und mit 40 cbcm. 10 proc. Natronlauge und 5 cbcm. Benzoylchlorid unter guter Abkühlung bis zum Verschwinden des Benzoylchloridgeruches geschüttelt. Der dadurch entstandene Benzoylniederschlag wurde abfiltrirt, mit etwas 10 proc. Natronlauge, dann mit Wasser gewaschen, im warmen Weingeist gelöst (in möglichst gleichen Mengen bei den sechs Versuchen) und mit 300 cbcm. Wasser gefällt. Das dadurch niedergeschlagene Benzoylgemenge wurde in einem vorher getrockneten und gewogenen Filter gesammelt, auf 100° getrocknet und gewogen.

Die erreichten Werthe sind in Folgendem beigegeben:

Benzoylgemeng	aus	24	Stunden	faulender	Flüssigkeit	0,560 gr.
»	»	2	Tage	»	»	0,752 »
»	»	3	»	»	»	0,825 »
»	»	4	»	»	»	0,728 »
»	»	5	»	»	»	0,572 »
»	»	6	»	»	»	0,583 »

Diese Zahlen zeigen uns deutlich 1. dass schon nach 24 Stunden Fäulniss die Bildung der Diaminen eine sehr grosse

ist, wenn man bedenkt, dass in den folgenden Tagen nicht viel über ein Viertel steigt, und 2. dass am dritten Tag bereits die Diaminenproduction ihren höchsten Grad erreicht, um dann nach und nach zu sinken, so dass am sechsten fast dieselbe Menge wie am ersten sich kennzeichnet.

Eine Untersuchung des Benzoylfiltrats auf weitere Benzoylverbindungen mittelst Ansäuern mit Schwefelsäure, Schütteln mit Aether, Auflösen und Fällen des Aetherrückstandes mit 10 proc. Natronlauge ergab nur so kleine Mengen der Benzoylverbindungen, dass sie nicht berücksichtigt werden konnten.

Obgleich die erzielten Ausbeuten nicht so bedeutend wie erwünscht waren, so habe ich eine Trennung mit Aether und warmem Wasser in der in meiner II. Mittheilung über Ptomaine berichteten Weise (conf. diese Zeitschrift) versucht.

Folgende Tabelle giebt Aufklärung dieses Trennungsversuches.

Tabelle I.

Zeitdauer der Fäulniss.	Gewonnene Benzoyl-Gemenge nach der ersten Umkrystallisation.	In Aether unlösliche Benzoylverbindungen.	In Wasser bei 70° C. unlöslicher Theil.	In Wasser bei 70° C. löslicher Theil.
1 Tag.	0,560 gr.	0,216 gr. 170° Spt.	Spuren.	0,139 gr. 127° Spt.
2 »	0,752 »	0,165 » 174° »	0,342 gr. 127,5° Spt.	0,210 » 124° »
3 »	0,825 »	0,272 » 155° »	0,015 » 174° »	0,285 » 126° »
4 »	0,728 »	0,180 » 173,5° »	0,150 » 128° »	0,300 » 124° »
5 »	0,572 »	0,193 » 168° »	Spuren.	0,248 » 128° »
6 »	0,583 »	0,267 » 160° »	»	0,180 » 126° »

Die angegebenen Werthe beweisen unzweideutig, dass die Bildung des Putrescins schon am ersten Tag der Fäulniss in einem hohen Grad sich zeigt und dass diese Bildung während der Versuchsdauer weder bedeutend sinkt noch sich merklich erhöht, wenn wir nicht vergessen, dass die Zahlen der in Aether unlöslichen Portionen von dem ersten, dritten, fünften und sechsten Tag so hoch in Folge einer Beimengung der anderen C-reicheren Diamine sind, wie die niedrigen Schmelz-

punkte derselben es beweisen. Obgleich v. Udránszky und Baumann[1]) fast quantitative Trennungen von Cadaverin- und Putrescindibenzoate durch Fällung des letzteren mittelst Aether erzielt haben, ist mir dennoch diese Scheidung nicht in demselben Masse gelungen. Ich darf annehmen, dass die Anwesenheit in den Gemengen eines in Aether gut löslichen Körpers, wie das Hexamethylendiamindibenzoat ist, die Löslichkeit des Putrescins (Benzoylverbindung) in jener Flüssigkeit erhöht, eine Annahme, welche von v. Udránszky und Baumann[2]) für das Benzoylputrescin bei Gegenwart von Benzoësäure ausgesprochen worden ist.

Aus der obigen Tabelle können wir auch entnehmen, dass die Bildung des Cadaverins und des Hexamethylendiamins eine regelmässige in den sechs Versuchstagen war und dass diese Versuche eine Bestätigung zu meinen früheren Angaben bringen.

Um eine Aufklärung zu ermöglichen, ob das Benzoylchlorid bei Anwesenheit von Natronlauge mit sämmtlichen bei der Fäulniss von Fleisch und Pankreas entstehenden Ptomainen in Verbindung steht, habe ich ferner die vom Benzoylniederschlage abfiltrirten Flüssigkeiten auf weitere Körper untersucht.

Es war von vornherein zu glauben, dass eine oder mehrere derjenigen von Nencki, Gautier und Etard, H. und E. Salkowski, Pouchet, Guareschi und Mosso, Brieger und Böcklisch beschriebenen Fäulnisssubstanzen wahrscheinlich einer Benzoylirung sich entziehen können. Die Aufgabe, solche Körper mittelst Darstellung ihrer Platinsalze zu trennen, schien jetzt leichter als sonst, da man den Lösungen drei der vorhandenen Ptomaine (Cadaverin, Putrescin und Hexamethylendiamin) durch Benzoylchlorid und Natronlauge bereits entzogen hatte.

Zu diesem Zweck wurden die Filtrate der Benzoylniederschläge mit Schwefelsäure angesäuert, bis keine Benzoesäure weiter entstand und dann mit Aether 4—5mal ge-

---

[1]) v. Udránszky und Baumann, diese Zeitschrift, Bd. 13.
[2]) Dieselben, l. c.

schüttelt. Die gewonnenen Aetherauszüge wurden, wie bereits erwähnt, auf weitere Diaminen untersucht; dagegen die wässerigen, von voriger Procedur erhaltenen Flüssigkeiten, wurden mit Baryumcarbonat unter gelindem Erwärmen neutralisirt, vom unlöslichen Baryumsulfat abfiltrirt, Filtrat mit Salzsäure schwach angesäuert und auf dem Wasserbad bis zum Trocknen abgedampft. Der Rückstand wurde alsdann mit 96procentigem Alkohol wiederholt extrahirt und das alkoholische Extract mit einer Platinchloridlösung (Platinchlorid 1:10 abs. Alkohol) gefällt. Nach mehreren Tagen wurden die Platinniederschläge durch vorher gewogene Filter von der Flüssigkeit abfiltrirt, mit absolutem Alkohol zuerst, dann mit Aether auf dem Filter gewaschen und endlich bei 100° C. getrocknet und kalt gewogen.

Die für die Platinniederschläge erhaltenen Werthe sind folgende:

Tabelle II.

Zahl der Tage, welche die Fäulniss dauerte.	Platinniederschläge.
1 Tag.	1,211 gr.
2 Tage.	1,680 »
3 »	2,397 »
4 »	1,331 »
5 »	3,512 »
6 »	1,602 »

Nach dieser Tabelle ist die Bildung der Substanzen, welche eine Verbindung mit Platinchlorid eingehen, nach 24 Stunden eine sehr ansehnliche. Diese Bildung erhöht sich im zweiten und dritten Tag und sinkt in den folgenden Tagen mit Ausnahme des fünften, indem diese Bildung sogar die des dritten Tages übertrifft. Ich hoffe, dass weitere Untersuchungen über diesen Punkt uns Aufklärung bringen werden.

Behufs Ermittelung der Zusammensetzung obiger Platinchloridniederschläge wurden die Ausbeuten von Versuchen 1, 3 und 5 in wenig mehr heissem Wasser als zur Lösung erforderlich war gelöst, und nach dem Erkalten der Flüssigkeit diese mit dem gleichen Volumen abs. Alkohol versetzt. Es entstand eine augenblickliche Fällung eines hellgelben, krystallinischen Niederschlags, welcher nach einmaligem Umkrystallisiren aus heissem Wasser drei verschiedene Krystallformen zeigte. Die mikroskopischen Untersuchungen dieser Krystalle sprechen für die Möglichkeit, dass wir hier mit dem Salzsaurenplatinsalz des Cholins zu thun haben.

Die alkoholisch-wässerigen Filtrate der erwähnten Verbindungen nach dem Trocknen im Vacuum über H_2SO_4 zeigten die Krystallisation sehr schöner Octäder, welche der des Platinsalmiaks entsprechen.

Die Ausführung der Analysen der beschriebenen Platinsalze ist von mir angefangen und hoffe ich nächstens darüber Mittheilung machen zu können.

Wenn ich nun das mitgetheilte kurz überblicke, so kann ich die Annahme feststellen:

1. dass die Production von Putrescin, Cadaverin und Hexamethylendiamin bei mit Fleisch und Pankreas dargestellten und bei einer günstigen Temperatur der Fäulniss überlassenen Versuchsflüssigkeiten eine sehr frühzeitige ist;
2. dass die Bildung dieser Diamine innerhalb weniger Tage (drei Tage bei mitgetheiltem Versuche) ihren höchsten Punkt erreicht, um dann sofort mehr und mehr zu sinken;
3. dass die Production der drei Diamine vom ersten bis zum letzten Tag des Versuchs eine verhältnissmässig gleiche ist.

Um mir die folgenden Beobachtungen, welche ich später in weiteren Versuchen vervielfältigen will, zu erhalten, füge ich vorläufig kurz hinzu, dass die Menge der gebildeten Diamine durch den Luftzutritt sehr verändert wird. Lässt

man so z. B. den Wattepfropf am Platz und schüttelt die verschlossenen Kolben, so vermeidet man dadurch den Luftzutritt und die Folge davon ist eine Beeinträchtigung der Fäulniss, respectiv der Diaminbildung. Ja sogar wenige Cubiccentimeter mehr Inhalt eines Kolbens als in einem anderen, unter sonst gleichen Bedingungen, verändert die Resultate paralleler Versuche.

Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg.

Ueber Ptomaine.

Von

Dr. S. Adeodato García aus Santiago de Chile.

(IV. Mittheilung.)

(Der Redaction zugegangen am 28. Januar 1893.)

Wie ich in meiner ersten Mittheilung über Ptomaine aus faulem Fleisch und Pankreas[1]) berichtet habe, glaubte ich in jenen Versuchen einen Körper, welchem nach den angeführten Analysen die Formel $C_6H_{16}N_2$ zukommt, und welchen ich vorläufig als Hexamethylendiamin bezeichnete, entdeckt zu haben.

Ich betonte in derselben Arbeit, dass drei der durch Baumann und v. Udránszky[2]) veröffentlichten Elementaranalysen des Benzoylpentamethylendiamins besser mit einem Körper von der Formel $C_6H_{16}N_2$ als mit dem Pentamethylendiamin übereinstimmen.

Es lag daher die Vermuthung nahe, dass die Diamine, welche letztgenannte Autoren bei einem Cystinkranken vorfanden, möglicherweise von der Base $C_6H_{16}N_2$ begleitet sein konnten. Herr Professor Baumann hat auf meine Bitte die Wiederaufnahme des Cystinpatienten in der hiesigen chirurgischen Klinik durch Herrn Prof. Kraske bewirkt. Bei dieser Gelegenheit sei es mir gestattet, Herrn Prof. Kraske und besonders Herrn Prof. Baumann für die gastfreund-

---

1) García, Ueber Ptomaine, I. Mittheilung, diese Zeitschr.

2) Baumann und v. Udránszky, diese Zeitschr., Bd. XIII, S. 568.

liche Aufnahme im Laboratorium meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Der Cystinpatient, dessen Krankengeschichte am anderen Ort[1]) bereits mitgetheilt worden ist, hat nach seinem Verlassen des Hospitals im Jahre 1888 über keine weitere Beschwerden zu klagen gehabt und befand sich seitdem in seiner Heimath, in Gündlingen am Kaiserstuhl, wo er als Schneider thätig ist.

Bevor man den Kranken zu längerem Aufenthalt im Hospital veranlasste, war zu ermitteln nothwendig, ob er noch Diamine ausschied. Herr Prof. Baumann gab sich die Aufgabe, diese investigatio praevia auszuführen, und er konnte fesstellen, dass der Cystinpatient immer noch Diamine mit Harn und Fäces entleerte.

Ich bekam die während einer Woche gesammelten Benzoylniederschläge einmal umkrystallisirt zur weiteren Untersuchung. Die aus dem Harn gewonnenen zwei Portionen betrugen 0,25 gr. und 0,197 gr., die erste schmolz bei 173° C., die zweite bei 175°. Sie bestanden ausschliesslich aus der Dibenzoylverbindung des Tetramethylendiamins. Zwei aus den Fäces dagestellte Präparate der Benzoylverbindungen wogen nach der zweiten Umkrystallisation 2,425 gr. und 1,768 gr.; das erstere schmolz bei 174°, das zweite bei 173°.

Diese Angaben genügen, um festzustellen: 1. dass der Cystinkranke Diamine mit Harn und Fäces entleerte; 2. dass diese Diamine merkwürdigerweise allein aus Tetramethylendiamin bestanden. Wie die Arbeiten von Baumann und v. Udránszky[2]) nachgewiesen haben, schied vor ca. 4 Jahren derselbe Patient mit dem Harn Diamine aus, von welchen $^1/_4$—$^1/_3$ aus Tetramethylendiamin, während der Rest aus Pentamethylendiamin bestand. In den Fäces gestaltete sich das Mengenverhältniss damals umgekehrt: hier waren nur 10—15% Cadaverin, während der Rest aus Putrescin bestand.

---

[1]) Mester, Inaugural-Dissertation 1889, S. 5.

[2]) Baumann und v. Udránszky, l. c.; Ber. d. chem. Gesellschaft, Bd. XXI, S. 2744 und 2938.

Die Thatsache, dass das Pentamethylendiamin aus dem Harn und den Fäces des Cystinpatienten jetzt vollständig verschwunden ist, ist jedenfalls eine sehr auffällige Erscheinung. Es ist verständlich, dass unter diesen Umständen auch die $C_6H_{16}N_2$ nicht gebildet worden ist.

Auch eine Portion von nicht ganz reinem Pentamethylendiamindibenzoat, welche ich von Herrn Prof. Baumann erhielt, um zu prüfen, ob es vielleicht etwas der Dibenzoylbase vom Schmelzpunkte 125,5° enthielte, erwies sich als frei von der gesuchten Verbindung. Das Präparat war aus den früheren Ausscheidungen des Cystinpatienten vor 4 Jahren von Baumann und v. Udránszky dargestellt worden. Es bestand aus fast reinem Cadaverindibenzoat, welches nur mit sehr wenig Kohlehydraten verunreinigt war.

2.

Durch eine in der jüngsten Zeit von Schmitz[1]) gemachte Beobachtung, die vom Verfasser als vorläufige Mittheilung veröffentlicht worden ist, wurde ermittelt, dass der Genuss grosser Mengen von frischem Käse eine starke Herabminderung der Aetherschwefelsäuren im Harn, respectiv der Fäulniss im Darm verursacht. Die Versuche von Schmitz, welche an Hunden durch Fütterung mit Topf- oder Napfkäse angestellt wurden, ergaben, soweit sie vor uns liegen, eine Verminderung der Aetherschwefelsäuren bis auf ein Drittel des gewöhnlichen Werthes. Bei hungerndem Thiere sank die Ausscheidung derselben bis auf ein Minimum, ja sie konnte ganz unterdrückt werden.

Nach der heutigen Lage unserer Kenntnisse über Diaminurie kann diese Krankheit nur als die Folge einer durch besondere Bacterien verursachten speziellen Darmfäulniss betrachtet werden. Wenn nun der Käsestoff eine Unterdrückung der Fäulnissvorgänge in normalem Darm hervorruft, so war a priori anzunehmen, dass dieselbe Nahrung, unserem Patienten gereicht, auch eine Herabminderung der Aether-

[1]) Schmitz, diese Zeitschr., Bd. XVII, S. 401.

schwefelsäuren, respectiv der Darmfäulniss zu Stande bringen würde. Auf Veranlassung von Herrn Prof. Baumann habe ich am Cystinpatienten diese Versuche angestellt.

Der Kranke wurde während 11 Tage bei gewöhnlicher gemischter Hospitalkost beobachtet und die Diamine aus Harn und Fäces mittelst Benzoylchlorid und Natronlauge gewonnen, wobei die Menge der Benzoylniederschläge bestimmt wurde. Die Form der Bearbeitung war für die 11 Tage folgende: Der Harn von je zwei Tagen wurde nach schwachem Ansäuern mit Salzsäure auf dem Dampfbad bis auf ein kleines Volumen (300—500 cbcm.) eingedampft; nach dem Erkalten der Flüssigkeit wurde diese mit 200 cbcm. 10% Natronlauge und 20 cbcm. Benzoylchlorid in der üblichen Weise geschüttelt; Niederschlag und Filtrat wurden in der bekannten Weise weiter behandelt. Die Fäces von gleichfalls je zwei Tagen wurden mit 1—1½ Liter gewöhnlichem Alkohol, welcher mit Schwefelsäure angesäuert war, versetzt, auf dem Wasserbad erwärmt, dann filtrirt; das Filtrat wurde verdampft, bis der Alkohol entfernt war, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, mit Thierkohle etwas entfärbt, filtrirt und das Filtrat mit 200 cbcm. 10% Natronlauge und 20 cbcm. Benzoylchlorid geschüttelt. Hier wurde nur der Niederschlag berücksichtigt.

Die erhaltenen Resultate lassen sich in folgenden zwei Tabellen überblicken. Um Wiederholungen zu vermeiden sei gleich bemerkt, dass aus dem Benzoylniederschlag des Harns jetzt nie Diamine gewonnen werden konnten, und dass die aus den Benzoylfiltrate erhaltenen Ausbeuten nur einmal umkrystallisirt wurden. Es sei noch weiter darauf aufmerksam gemacht, dass nach der erwähnten Behandlung des Harns entweder durch das lange Verdampfen desselben oder durch die Anwesenheit grösserer Mengen von Ammoniumsalzen die Abscheidung des Cystins in Form von Benzoylcystin verhindert worden ist. Dass das Cystin in dem eingedampften Harn noch enthalten sei, dafür sprach die reichliche Bildung von Schwefelblei, welche beim Erwärmen derselben mit Natronlauge nnd einigen Tropfen Bleiacetat eintrat.

Tabelle I.

Diamin aus Harn bei gemischter Kost.

Datum.	Tägliche Harnmenge in cbcm.	Spec. Gewicht des Harns.	Menge der Benzoyldiamine in gr.	Schmelzpunkt.	Menge der Benzoyldiamine für einen Tag berechnet.
22. XI. 92.	2000	1016	Spuren.	—	—
23. »	1400	1024			
24. »	2300	1015	Spuren.	—	—
25. »	2300	1016			
26. »	2000	1020			
27. »	2300	1015	0,210	168°	0,070
28. »	2000	1016			
29. »	2000	1018	Spuren.	—	—
30. »	2500	1017			
1. XII. 92.	1700	1020	0,085	160°	0,0425
2. »	2300	1015			

Diese Resultate zeigen uns, dass die Ausscheidung der Diamine durch den Harn in den 11 untersuchten Tagen eine ganz wechselnde war: in den ersten Tagen waren diese nicht vorhanden, dann traten sie hervor, um nachher zu verschwinden und später wieder zu erscheinen. Dagegen ist das Verhältniss derselben in den Fäces nicht allein ein regelmässiges, sondern auch ein progressiv steigendes.

Tabelle II.

Diamine aus Fäces bei gewöhnlicher Kost.

Datum.	Menge der Benzoyldiamine in gr.	Schmelzpunkt.	Zahl der Umkrystallisation.	Menge der Benzoyldiamine für einen Tag berechnet.
22. XI. 92.	1,418	172°	2	0,709
23. »				
24. »	1,940	174°	2	0,970
25. »				
26. »				
27. »	4,021	170°	2	1,3403
28. »				
29. »	2,121	171°	2	1,0605
30. »				
1. XII. 92.	2,849	172°	2	1,4245
2. »				

Das lässt sich in der Weise erklären, dass der Patient in den beobachteten Tagen mehr und eiweissreichere Nahrung zu sich nahm als die, welche er zu Hause genoss. Daraus können wir entnehmen, dass die Eiweissnahrung eine Erhöhung der Diaminenbildung bei unserem Cystinkranken bewirkt. Die in den Tabellen mitgetheilten Resultate bestätigen ausserdem, was die ersten vorläufigen Versuche gezeigt hatten, nämlich dass der Patient nur Tetramethylendiamin mit Harn und Fäces ausscheidet. Die Schmelzpunkte der aus den Fäces gewonnenen Benzoylverbindungen der Tabellen bewegen sich zwischen 170° und 174°, was für die Benzoylverbindung des Putrescins (Schmelzp. 175°) spricht. Die Benzoylniederschläge aus dem Harn, welche etwas niedriger schmolzen, lieferten nach Beseitigung einer Beimengung von benzoylirten Kohlenhydraten, gleichfalls reines Dibenzoylputrescin.

Nach diesem vorläufigen Versuche bekam der Cystinkranke während 8 Tagen neben der gewöhnlichen Kost, welche etwas reducirt wurde, Napfkäse (Pipeleskäse) und Brod. Die Mengen, welche der Patient davon genoss, wechselten zwischen 200—300 gr. täglich.

Die Bearbeitung des Harns und Fäces erlitt nur jetzt die Veränderung, indem der Harn nicht abgedampft, sondern direct benzoylirt wurde. Die hierbei erzielten Resultate sind folgende:

Tabelle III.

Diamine und Cystin aus Harn bei Ernährung mit Käse.

Datum.	Tägliche Harnmenge in cbcm.	Spec. Gewicht des Harns.	Menge der Benzoyldiamine in gr.	Schmelzpunkt.	Menge der Benzoyldiamine für einen Tag berechnet.	Menge des Benzoyl-Cystins.	Menge des Benzoyl-Cystins für einen Tag berechnet.
3. XII. 92.	2200	1017	0,610	172°	0,305	0,602	0,301
5. »	1750	1020					
6. »	2200	1015	0,130	174°	0,065	1,390	0,695
7. »	1800	1020					
8. »	1700	1022	0,210	174°	0,105	1,970	0,985
9. »	1600	1020					
10. »	1300	1020	Spuren.	—	—	0,391	0,391

Tabelle IV.
Diamine aus Fäces bei Ernährung mit Käse.

Datum.	Menge der Benzoyldiamine in gr.	Schmelz-punkt.	Zahl der Umkrystallisation.	Menge der Benzoyldiamine für einen Tag berechnet.
3. XII. 92. / 5. »	2,504	171°	2	1,252
6. » / 7. »	2,302	170°	2	1,151
8. » / 9. »	3,472	173°	4	1,736
10. » / 11. »	2,904	173°	2	1,452

In diesen zwei wie in den vorigen Tabellen bemerkt man, dass die Mengen der Diaminen im Harn sehr wechselnde sind. Man kann desshalb nicht sagen, dass nach Darreichung von Käse eine Steigerung oder eine Verminderung der Diaminbildung stattgefunden hat. In den Fäces gestaltet sich die Sache wieder anders. Hier können wir sagen, dass, wenn auch eine deutliche Steigerung der Diamine nicht stattfand, wenigstens eine Abnahme ihrer Bildung sicher nicht eintrat.

Um zu ermitteln, ob die Käsediät von Einfluss auf die sonstigen Fäulnissvorgänge im Darm gewesen ist, wurden an zwei Tagen Bestimmungen der Schwefelsäure und der Aetherschwefelsäure-Ausscheidung ausgeführt, wobei die in Tabelle 5 verzeichneten Werthe gefunden wurden.

Tabelle V.
Schwefelsäurebestimmung im Harn bei Kost mit Käse.

Datum.	Gesammte Schwefelsäure in 50 cbcm. Harn		Gepaarte Schwefelsäuren in 50 cbcm. Harn	
	als $BaSO_4$.	als H_2SO_4.	als $BaSO_4$.	als H_2SO_4.
7. XII. 92.	0,1510 gr.	0,0635 gr.	0,0150 gr.	0,0063 gr.
10. »	0,1345 »	0,0566 »	0,0130 »	0,0054 »

Das Verhältniss der Schwefelsäuren ist nach obigen Werthen als normal zu betrachten. B ist zu A wie 1 zu 10.

Die Aetherschwefelsäuren sind in Folge dessen nicht herabgemindert. Danach sind die von unserem Patienten aufgenommenen Mengen von Käse nicht so gross gewesen, um denselben Einfluss auf die Darmfäulniss, welchen Schmitz (l. c.) bei Hunden nach ausschliesslicher Ernährung mit frischem Käse beobachtet hat, zu erreichen.

In der Tabelle 3 sind ausser den Bestimmungen der Diamine auch die des Benzoylcystins aufgeführt. Obgleich diese Methode zur Ermittelung des Cystins keine quantitative ist, so gibt sie immerhin annährende Resultate, die zu einer Vergleichung der Cystinbildung mit der Diaminausscheidung vorläufig genügen. Baumann und v. Udránszky[1]) haben zur Trennung der Benzoylverbindungen des Cystins und der Diamine folgenden Weg eingeschlagen: das vom Benzoylniederschlag der Diaminen und der vorhandenen Kohlehydrate gewonnene Filtrat wird mit Schwefelsäure stark angesäuert, zwei- bis dreimal mit je so viel Aether wie Flüssigkeit geschüttelt; das Aetherextract wird bis zur vollständigen Entfernung des Aethers abdestillirt und der Rückstand mit so viel 10% Natronlauge versetzt, bis eine neutrale Reaction sich zeigt. In der Lauge lösen sich die Benzoesäure, das Benzoylcystin und zu einem kleinen Theil auch die Benzoyldiamine (namentlich wenn noch etwas Alkohol zugegen ist). Wenn man nun jetzt einen Ueberschuss von Natronlauge, die dreifache Menge nach den Angaben Baumann's und v. Udránszky's, zur Flüssigkeit hinzugiesst und die Lösung zwei bis drei Stunden in kaltes Wasser, besser in Eis stellt, so erreicht man eine Krystallisation der Natriumverbindungen des Benzoylcystins, welches in perlmutterglänzenden Blättchen sich abscheidet, und der Benzoyldiamine.

Ich habe die durch Natronlauge bewirkte fast neutrale oder etwas alkalische Lösung der oben erwähnten Verbindungen anstatt mit der dreifachen Menge, nur mit einmal so viel Natronlauge versetzt und in dieser Weise eine gute Abscheidung der Benzoylverbindungen des Cystins und der Diamine erzielt. Diese Procedur betrachte ich als vortheil-

[1]) Baumann und v. Udránszky, l. c., S. 365.

hafter wie die von Baumann und v. Udránszky angewendete, da das Natriumsalz des Benzoylcystin in einem grösseren Ueberschuss von Natronlauge sich noch ein wenig löst. Filtrirt man die mit dem gleichen Volum Natronlauge versetzte Flüssigkeit ab und giesst dann mehr Natronlauge hinzu, so erreicht man keinen weiteren Niederschlag. Das zeigt, dass die von mir angewendete Menge eine genügende ist.

Der einmal mit 10% Natronlauge gewaschene Niederschlag der Diamine und des Benzoylcystin-Natriums wird auf dem Filter mit Wasser übergossen, wodurch das Benzoylcystinnatrium in Lösung übergeht. Man wäscht das Filter so lange aus, als das Filtrat mit Salzsäure noch getrübt wird.

Das an dem Filtrat mit Salzsäure gefällte Benzoylcystin wird abfiltrirt, mit der Pumpe von so viel Wasser als möglich befreit, dann getrocknet und gewogen. In solcher Form gelingt es vielmal, den grössten Theil des Cystins aus dem Harn zu gewinnen, oft bleibt viel davon in den Mutterlaugen. Das hängt von sehr verschiedenen Umständen ab. Es diene als Beispiel Folgendes. Das Aetherextract des Versuches vom 18. December, in derselben Weise wie sonst behandelt, gab nur einen Diaminniederschlag; ich glaubte anfänglich, es wäre an diesem Tage kein Cystin gebildet worden, aus Vorsicht aber säuerte ich die Mutterlauge abermals mit Schwefelsäure an, schüttelte die Flüssigkeit mit Aether und behandelte den Aetherauszug in der üblichen Form. Jetzt erhielt ich eine Ausbeute von 0,287 gr. Benzoylcystin.

Das Verhältniss zwischen Cystinbildung bei Ernährung mit frisch dargestelltem Käse scheint in Abhängigkeit mit der Diaminbildung zu stehen, wie ich es nachher, nachdem wir in Kenntniss der folgenden Versuche gesetzt sind, darlegen will.

3.

Die Untersuchungen von Hirschler[1]) über die Bildung der aromatischen Producten in Fäulnissflüssigkeiten, zu welchen man Kohlehydrate hinzugesetzt hat, haben gezeigt, dass diese eine fast totale Aufhebung der Fäulniss verursachen. Meine

---

[1]) Hirschler, diese Zeitschr., Bd. X, S. 306.

in derselben Weise angestellten Versuche[1]) ergaben für die Diaminbildung eine Herabminderung derselben bis auf die Hälfte und darunter. Es war von Interesse, diese Laboratoriumsversuche auch beim Menschen auszuführen.

Unser Diaminpatient wurde deshalb während einer Woche auf eine an Kohlehydraten reiche Kost gesetzt: er bekam Kartoffeln, Reis, Linsen, Kraut, Fett, etwas Brod und 4 halbe Flaschen Bier täglich. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie früher.

Tabelle VI.
Diamine und Cystin aus dem Harn bei vorwiegender Ernährung mit Kohlehydraten.

Datum.	Tägliche Harnmenge in cbcm.	Spec. Gewicht des Harns.	Menge des Benzoyldiamine in gr.	Schmelzpunkt.	Menge der Benzoyldiamine für einen Tag berechnet.	Menge des Benzoyl-Cystins.	Menge des Benzoyl-Cystins für einen Tag berechnet.
12. XII. 92.	2100	1025	Spuren.	—	—	0,424	0,212
13. »	1300	1020					
14. »	2100	1012	0,428	172°	0,214	1,116	0,558
15. »	2000	1011					
16. »	2300	1013	0,182	173°	0,091	1,413	0,7065
17. »	2700	1010					
18. »	2600	1017	0,105	172°	0,105	0,287	0,287

Tabelle VII.
Diamine aus Fäces bei vorwiegender Ernährung mit Kohlehydraten.

Datum.	Menge der Benzoyldiamine in gr.	Schmelzpunkt,	Zahl der Umkrystallisation.	Menge der Benzoyldiamine für einen Tag berechnet.
12. XII. 92.	2,6545	173°	2	1,3272
13. »				
14. »	0,768	172°	2	0,384
15. »				
16. »	1,218	173°	1	0,609
17. »				
18. »	0,547	174°	1	0,547

[1]) García, diese Zeitschr., Bd. XVII.

Das erhoffte Resultat trat also hier wie in den Kolbenversuchen hervor, nämlich ein bedeutendes Herabsinken der Diaminbildung wie es die Werthe von Tabelle 7 deutlich zeigen. Die Harndiamine sind hier wie vorher in sehr wechselnden Mengen vorhanden. Die Verminderung der Diaminproduction im Darm in Folge der dargereichten Nahrung ist bis auf 0,384 gr. gesunken, d. h. bis auf $^1/_3$—$^1/_4$ der Mengen, welche sich in den Versuchstagen der Kost mit Käse bildeten. Hier war die niedrigste Tagesmenge 1,151 und die höchste 1,736 gr. der Benzoylverbindung. Eine so starke Herabminderung ist bei den Kolbenversuchen mit Hilfe der Kohlehydrate (Zucker) nicht erzielt worden[1]), was wohl durch die verminderte Eiweissaufnahme mit bedingt sein mag.

Ehe ich die bis jetzt mitgetheilten Ergebnisse zusammenfasse, möchte ich noch eine andere Versuchsreihe mittheilen welche, obgleich sie von der Vollständigkeit weit zurückbleibt, manche Aufschlüsse über die Darmfäulniss bei Diaminurie giebt.

4.

Bekanntlich sind durch Baumann und v. Udránszky die Diamine im Harn eines Cystinpatienten zuerst entdeckt worden. Der Umstand, dass Brieger[2]) das Cadaverin und Putrescin als Producte der Thätigkeit gewisser Mikroorganismen bewiesen hatte, und das reichliche Vorkommen der Diamine im Darm veranlasste Baumann und v. Udránszky[3]), den Darm als die Bildungsstatt der Diamine anzusehen. Damit war aber noch nicht vollständig bewiesen, dass das Vorhandensein von Diaminen in Harn und Fäces der Bacterienthätigkeit allein zuzuschreiben ist. Sollte es z. B. der Wirklichkeit entsprechen, dass in frischem Pankreas sich Pentamethylendiamin vorfindet[4]), so wäre nicht schwer zu begreifen, dass diese

---

[1]) Conf. meine II. Mittheilung über Ptomaine.
[2]) Brieger, Ptomaine, 3 Theile, Berlin.
[3]) Baumann und v. Udránszky, diese Zeitschr., Bd. XIII, S. 584.
[4]) Verigo, Pflüger's Arch., Bd. 51, S. 362.

Cadaverinproduction durch irgend eine Ursache gesteigert werden kann und somit die Krankheit, welche wir als Diaminurie bezeichnen, verursacht.

Da feststeht, dass die Darmmikroorganismen mit Luft und Nahrung in den Darmkanal gelangen[1]), so bleibt doch unerklärlich, wesshalb sonst die Fäulniss im Darm keine Diamine bildet, wie es ausserhalb des Organismus der Fall ist, unter Bedingungen, welche als der Darmfäulniss sehr ähnlich sind. Bis jetzt sind aber die Excremente bei gesunden Menschen und bei den verschiedenartigsten Krankheiten auf Diamine untersucht worden, und bis heute sind diese Diamine nur in den drei Cystinfällen von Baumann und v. Udrànszky (l. c.) und von Stadthagen und Brieger[2]) und in kleineren Mengen von Roos[3]) in zwei Fällen von schwerer Darmerkrankung gefunden worden. Brieger[4]) vermuthet, dass das Pentamethylendiamin in den Cholerastühlen sich finde. Danach liegt der Gedanke nahe, dass die Diaminbildung bei Cystinurie entweder 1. durch eine specielle Art von Bacterien, oder 2. durch das Vorhandensein einer besonderen Substanz im Darm —, welche nur bei dieser Krankheit sich vorfindet — und aus welcher die Diamine leicht entstehen können, verursacht wird. Eine sichere Entscheidung dieser zwei Fragen kann nur durch bacteriologische Untersuchungen der Excremente bei Cystinurie, und eine genaue Erforschung der Vorgänge im Darmkanal bei dieser Krankheit bringen.

Die Annahme, es können besondere Bacterien die Diaminbildung bei Cystinurie verursachen, hat mich dahin geführt auf Veranlassung von Herrn Prof. Baumann zu untersuchen, ob die Fäces des Cystinkranken eine Erhöhung der Diamine in geeigneten Fäulnissflüssigkeiten zu Stande bringen.

---

[1]) Durch die Untersuchungen von Zweifel, Hoppe-Seyler und Senator wissen wir, dass im Darm des Fötus keine Fäulnissproducte vorkommen und dass die Fäulniss erst nach der Geburt eintritt.

[2]) Arch. f. path. Anat., Bd. 165, Heft 3; Berl. klin. Wochensch. 1889, Nr. 16.

[3]) Diese Zeitschr., Bd. XVI, S. 192.

[4]) Brieger, Berl. klin. Wochensch. 1887, Nr. 44.

Zu diesem Zweck wurde folgende Versuchsanordnung getroffen: Am 12. December 1892 um 6 Uhr P. M. wurden 3000 gr. frisches Pferdefleisch und ein frisches Rindpankreas fein zerhackt, mit 12 Litern destillirten Wassers versetzt und unter mehrmaligem Umrühren stehen gelassen. Am folgenden Tage 10 Uhr A. M. wurde der Brei durch Leinwand abfiltrirt und ausgepresst, das Filtrat dann im Keller an kühlem Ort (bei etwa 0°) in zwei grossen verschlossenen Gefässen aufbewahrt[1]). Mit dieser Flüssigkeit wurden täglich um 11 Uhr A. M. während 6 Tagen je 2 Kolben (ein Liter Inhalt) bereitet, von denen jeder Folgendes erhielt:

1000 cbcm. Extract
10 gr. Calcium-Carbonat.

Einer von diesen Kolben erhielt ausserdem 20 gr. Fäces vom Cystinkranken. Die Flaschen wurden in einer Wasserwanne bei einer constanten Temperatur von 31° C. gestellt, mit Watte verschlossen und öfters geschüttelt. Beim Schütteln wurde beachtet, dass der Wattepfropf nicht benässet und ausserdem, dass die ersten drei Paar Kolben nicht geöffnet wurden. Die letzten drei Paar Flaschen wurden dagegen wiederholt geöffnet und tüchtig mit Luft geschüttelt. Jeder Kolben wurde während 4 Tagen in dieser Weise behandelt, dann in nachstehender Form weiter bearbeitet. Die auf dem Dampfbad fast bis zum Kochen erhitzte Flüssigkeit wurde warm filtrirt, nach dem Erkalten das Filtrat mit 80 cbcm. conc. Natronlauge und 20 cbcm. Benzoylchlorid nach der bekannten Methode geschüttelt. Da die stark alkalische Lösung so schlecht filtrirt, so habe ich folgenden Weg eingeschlagen. Die Flüssigkeit mitsammt des Benzoylniederschlags wurde mit starker Schwefelsäure angesäuert, etwas erkalten lassen, dann mit Hilfe der Luftpumpe und Porcellantrichter filtrirt (wodurch diese Procedur in 10 Minuten geendet wird), Niederschlag mit sehr verdünnter Natronlauge zur Entfernung des grössten Theils der Benzoesäure gewaschen, der Rest des

---

[1]) Am sechsten Tag, als die letzten zwei Portionen verwendet wurden, zeigte dieses Extract noch keinerlei Fäulnissgeruch.

Niederschlags mitsammt dem Filter mit Alkohol digerirt und die warm filtrirte Lösung mit viel Wasser gefällt. Die dadurch entstandene sehr trübe Flüssigkeit wurde alsdann mit etwas Natronlauge schwach alkalisch gemacht, $^1/_4$ Stunde auf dem Dampfbad erwärmt und nachher 12 Stunden am kühlen Ort stehen gelassen. Die am Ende dieser Zeit abfiltrirten Niederschläge wurden bei 100° getrocknet und gewogen; schliesslich wurde der Schmelzpunkt bestimmt.

In folgender Tabelle lassen sich die erwähnten Resultate erblicken.

Tabelle VIII.

Diamine aus Fleisch- und Pankreasextract nach viertägiger Fäulniss bei 31° C.

	Anfangs- resp. Endtag der Fäulniss.	Versuche (mit Fäces des Diaminkranken inficirt).		Controlversuche.		Bemerkungen.
		Menge der Benzoyl-diamine in gr.	Schmp.	Menge der Benzoyl-diamine in gr.	Schmp.	
Ohne Luft geschüttelt.	13.-17.XII.92.	0,967 [1])	155-185	0	—	[1]) Die Fäces haben 1 Stunde in Alkohol gelegen.
	14.-18. »	0,030	127°	0	—	
	15.-19. »	0,227	127°	0	—	
Mit Luft geschüttelt.	16.-20. »	0,466	127°	0,226	—	
	17.-21. »	1,225	127°	0,466	150°	
	18.-22. »	0,862	127°	0 [2])	—	[2]) Mit Fäces, von gesunden Menschen inficirt.

Die Menge der aus dem Versuche vom 13.—17. December (mit Fäces des Cystinkranken inficirt) gewonnenen Benzoyldiamine, sowie der Schmelzpunkt 155—185°, sprechen für die Anwesenheit eines Körpers, welcher von den Substanzen, welche aus dem in gleicher Form angestellten Fäulnissversuchen gewonnenen Produkte verschieden zu sein scheint. Die zur Inficirung der Versuchsflüssigkeit benutzten Fäces hatten beim ersten Versuche eine Stunde in Alkohol gelegen. Vielleicht ist dieser Umstand die Ursache des beim

ersten Versuche beobachtenden abweichenden Verhaltens der Benzoylverbindungen.

Wir können aus den angegebenen Werthen der vorigen Tabelle entnehmen, dass die mit anormalen Fäces nicht geimpften Flüssigkeiten keine Spuren von Diaminen zeigten, wenn sie nicht mit Luft geschüttelt wurden. Diese Resultate bestätigen in hohem Masse meine am anderen Ort mitgetheilten Beobachtungen[1]). Der Luftzutritt in solchen Versuchsflüssigkeiten ist in Folge der Zersetzung des kohlensauren Kalks ein verschwindend kleiner; denn die durch die entstehenden Säuren in Freiheit gesetzte Kohlensäure strömt fortwährend durch den Wattepfropf und verhindert so den Lufteintritt. Dass diese Luftabwesenheit nicht die Diaminbildung in den mit Fäces des Kranken inficirten Flüssigkeiten ganz verhindern konnte, zeigen die aus denselben gewonnenen Benzoyldiamine.

Bei den mit Luft geschüttelten Portionen tritt ebenfalls ganz prägnant hervor, dass die nicht inficirten Flüssigkeitsextracte eine ansehnliche Diaminbildung zeigen, aber immer $^1/_2$—$^1/_3$ geringer als bei den mit den Excrementen des Cystinpatienten geimpften Portionen. Um dem Einwande zu begegnen, dass die Fäces für sich allein eine Erhöhung der Diaminproduction verursache, habe ich bei den zwei letzten Versuchen den ersten Kolben mit Fäces des Cystinpatienten beim Controlversuch mit den Excrementen eines gesunden Mannes inficirt. Bei diesen Versuchen tritt ein noch grösserer Unterschied hervor als bei den früheren, indem der Controlversuch keine Spur von Diaminen lieferte, während in dem Parallelversuch 0,862 gr. Benzoyldiamine erhalten wurden.

Nach diesen Ergebnissen können wir wohl behaupten, dass es im höchsten Grade wahrscheinlich ist, dass die Anwesenheit besonderer Mikroorganismen im Darmkanal unseres Patienten die Diaminbildung verursacht. Die bacteriologische Untersuchung der Darmpilze wäre in Folge dessen sehr wünschenswerth.

---

[1]) III. Mittheilung Ueber Ptomaine, diese Zeitschr., Bd. XIII.

5.

Die bereits hervorgehobene Thatsache, dass der Diaminkranke nur Tetramethylendiamin neben Cystin in dem Zeitabschnitt meiner Untersuchungen ausscheidet, erlaubt an eine Auffassung der Cystinurie zu denken, welche bis jetzt nicht geäussert worden ist. Wir stehen immer vor dem Dilema: ist die Diaminurie ein Sympton der Cystinurie und umgekehrt die Cystinausscheidung ein Sympton der Diaminurie, oder ist die Production von Cystin und Diaminen zufälligerweise bei denselben Patienten zusammengetroffen? Dass diese letzte Hypothese eine ganz unwahrscheinliche ist, zeigt uns die Thatsache, dass in den drei Fällen von Cystinurie, welche in der letzten Zeit genau untersucht worden sind, eine gleichzeitige Diaminproduction nachgewiesen worden ist. Wenn wir bei der Annahme bleiben, dass Diaminurie und Cystinurie immer zusammentreffen, so kann man die Frage aufwerfen, ob eine dieser Substanzen nicht aus der anderen entstehen könne. Die Untersuchungen von Goldmann und Baumann[1]) haben gezeigt, dass Cystin, oder genauer gesagt, eine dem Cystin sehr ähnliche Substanz im normalen Harn vorkommt. Dagegen Diamine sind weder im Harn noch in den Fäcalmassen gefunden. Der erste Gedanke wäre also, die Entstehung der Diamine aus dem Cystin herzuleiten. Aber nach den Untersuchungen von Brieger undBöcklisch[2]) musste man annehmen, dass das Cadaverin früher als das Putrescin in Fäulnissflüssigkeiten auftritt. Diese Angaben führen ganz natürlich zu dem Gedanken, dass das Tetramethylendiamin aus dem Pentamethylendiamin entstehen könne.

Im Einklang mit den Angaben von Brieger und Böcklisch steht die Hypothese von v. Udránszky und Baumann[3]), nämlich dass im Darmkanal sich vorwiegend Pentamethylendiamin in den oberen Theilen, wo die Resorption

[1]) Goldmann und Baumann, diese Zeitschr., Bd. XII, S. 257.
[2]) Brieger, Ptomaine, 3. Theil.
[3]) v. Udránszky und Baumann, diese Zeitschr., Bd. XIII, S. 586.

eine lebhaftere ist, in den unteren dagegen Tetramethylendiamin sich bilde. Die genannten Autoren stützen sich dabei auf die Thatsache, dass im Harn mehr Cadaverin, in den Fäces mehr Putrescin von ihnen gefunden worden ist.

Das Resultat, dass jetzt kein Cadaverin mehr durch den Cystinkranken ausgeschieden wird, bringt ein neues Interesse für diese Frage. Vielleicht spricht dieser Umstand dafür, dass das Putrescin früher als das Cadaverin im Darm entsteht. Auch die in meiner 3. Mittheilung über Ptomaine berichteten Versuche, könnten wie ich glaube, zu Gunsten dieser Annahme gedeutet werden. Nach diesen Untersuchungen sind die Angaben Brieger's und Böcklisch's über die Entstehungsart dieser Ptomaine nicht ganz zutreffend, vielmehr lässt sich sagen, dass Cadaverin und Putrescin zu gleichen Mengen und Zeiten entstehen; so stellte ich aus einem 24 stündigem Fäulnissversuch 0,560 gr. Benzoyldiamine dar, aus welchen 0,216 gr. einer bei 170° schmelzende Verbindung — also fast reines Dibenzoyltetramethylendiamin — und 0,139 gr. eines bei 127° schmelzendem Körper — d. h. nur wenig verunreinigtes Cadaverindibenzoat — gewonnen wurden. Danach wäre es denkbar, dass zuerst Putrescin auftritt. Ich möchte mich indessen in dieser Frage noch nicht bestimmt aussprechen, weil ich in dieser Richtung eingehende Versuche anzustellen hoffe. Der Unterschied zwischen meinen und Brieger's Angaben ist vielleicht auch durch die Methoden, welche wir anwendeten, bedingt. Den Vortheil der Benzoylirungsmethode, von welcher ich Gebrauch machte, von dem Brieger'schen Verfahren, habe ich schon am anderen Ort hervorgehoben.

Wie aber auch die Folge in der Entstehung von Putrescin und Cadaverin entschieden werden wird, die bei unserem Cystinpatienten erhaltenen Befunde lassen die Verhältnisse zwischen Cystin- und Diamineausscheidung nicht wie früher erklären.

In der folgenden Tabelle 9 ist ein Ueberblick über die Ausscheidungsverhältnisse der Diamine und des Cystins, soweit diese von mir festgestellt werden konnten, gegeben.

Tabelle IX.

	Datum.	Benzoyldiamine aus Harn für einen Tag berechnet.	Schmelzpunkt.	Menge der Benzoyldiamine aus Fäces f. einen Tag berechnet.	Schmelzpunkt.	Gesammtmenge der Diamine aus Harn und Fäces für einen Tag berechnet	Benzoyl-Cystin für einen Tag berechnet.
Kost mit Käse.	3. XII. 92. 5. »	0,305	172°	1,252	171°	1,557	0,301
	6. » 7. »	0,065	174°	1,151	170°	1,216	0,695
	8. » 9. »	0,105	174°	1,736	173°	1,841	0,985
	10. »	Spuren.	—	1,452	173°	1,452	0,391
	11. »	nicht bestimmt.	—				nicht bestimmt.
Kost mit Kohlehydrate.	12. » 13. »	Spuren.	—	1,327	173°	1,327	0,212
	14. » 15. »	0,214	172°	0,384	172°	0,598	0,558
	16. » 17. »	0,091	173°	0,609	173°	0,700	0,706
	18. »	0,105	172°	0,547	174°	0,652	0,287

Wenn wir einen Blick auf die Tabelle 9 werfen, so gewinnen wir den Eindruck, als ob die Resorption des Tetramethylendiamins durch den Darm gar nicht mit der Menge des gebildeten Diamins im Verhältniss stände. So sehen wir, dass an jenen Tagen, in denen die genannte Diaminbildung eine sehr hohe war, die Diaminwerthe im Harn verhältnissmässig niedrig blieben (Vergleiche 5.—7., 10.—11., 12.—13. December). So sehen wir auch, obgleich die Methode zur Cystingewinnung keine quantitative ist, dass an jenen Versuchstagen, in welchen die Diaminbildung eine hohe, die Cystinausscheidung verhältnissmässig eine niedrige war. Das gilt besonders für die Periode, während welcher der Cystinpatient sich vorwiegend mit Käse nährte. In den letzten Tagen der Kohlenhydratefütterung änderte sich dieses Verhältniss ganz. Dass aber an mehreren Tagen die Cystinausscheidung niedrig war, wo gerade die Diamine vermehrt waren, lässt vermuthen, dass das Cystin selbst in Diamin umgewandelt werden könne. Wenn wir die Constitution des

Cystins ins Auge fassen, so sehen wir, dass das Cystin vom Tetramethylendiamin nur durch je zwei Mollecülen CO_2 und dem Gehalt an S sich unterscheidet.

Durch einen Reductionsprocess könnte sich z. B. unter Spaltung von CO_2 und H_2S aus dem Cystin Tetramethylendiamin bilden.

Dass die Fütterungsversuche mit Cystin bei Hunden ein solches Resultat nicht ergeben haben, sondern nur eine Vermehrung der Schwefelsäurenausscheidung, beweisst nicht, dass die Anwesenheit im Darm besonderer Mikroorganismen, welche meine Impfungsversuche sehr wahrscheinlich machen, eine solche Spaltung bewirken können.

Mit dieser Hypothese steht ferner auch in Widerspruch die Thatsache, dass v. Udránszky und Baumann[1]) in den Darmentleerungen des Cystinpatienten kein Cystin fanden. Ich will desshalb gar nicht verkennen, dass die von mir angestellte Hypothese noch durchaus einer weiteren Begründung bedarf.

6.

Wenn ich jetzt die Ergebnisse obiger Versuche kurz zusammenfasse, so kann ich folgende Thatsachen feststellen:

1. In dem späteren Verlauf der Cystinurie wird nur Tetramethylendiamin gebildet.
2. Das Darreichen von Napfkäse erzeugt bei Diaminurie keine Verminderung, sondern eher eine Steigerung der Production von Diamine.
3. Die Ernährung mit Kohlehydraten dagegen mindert sehr stark die Diaminbildung.
4. Die Impfung von Nährflüssigkeiten mit Fäces des Diaminkranken steigert in solchen Fäulnissversuchen die Entstehung von Ptomainen.
5. Bei nicht geimpften Flüssigkeiten hindert der Luftabschluss während der ersten Tage die Bildung der Diamine (während 4 Tagen in den angestellten Versuchen).

Freiburg i. B., den 9. Januar 1893.

[1]) v. Udránszky und Baumann, l. c., S. 594.

Ueber den Zucker in den Muskeln.

Von

A. Panormoff, Privatdocent an der Universität Kasan.

(Der Redaction zugegangen am 11. Januar 1898.)

Durch die Untersuchungen von Cramer[1]) und mir[2]) ist es erwiesen, dass sich das Glycogen in den Muskeln nach dem Tode ebenso verhält wie in der Leber, d. h. eine dauernde Abnahme desselben eintritt. Es entsteht nun die Frage, ob sich dieser Parallelismus zwischen dem Leber- und Muskelglycogen in ihrem physiologischen Verhalten auch weiter verfolgen lässt, ob also das Glycogen in den Muskeln ebenso wie in der Leber in Traubenzucker übergeht. Diese Frage ist verschieden beantwortet worden. Nach Cl. Bernard[3]) und Tichonowitsch[4]) bildet sich in den Muskeln kein Zucker, nach Meissner[5]) ist in den Muskeln eine besondere Art von Zucker enthalten, der gährungsfähig, vom Traubenzucker aber durch geringere Löslichkeit in Alkohol und die Unfähigkeit mit NaCl eine krystallisirte Verbindung zugeben, unterscheidet. Dieser Zucker ist in reinem Zustande nicht erhalten worden. Ranke[6]) bestätigt die Angabe, dass im

---

[1]) Zeitschrift für Biologie 1887, Bd. 24.

[2]) Beilagen zu den Protokollen der Sitzungen der Naturforschenden Gesellschaft der Universität Kasan, No. 119.

[3]) Vorlesungen über den Diabetes. Deutsch von A. Posner 1878, S. 261.

[4]) Quelle der Bildung der Kohlehydrate. Charkow 1866.

[5]) Nachrichten von der Universität zu Göttingen, 1861 und 1862.

[6]) Tetanus, Leipzig 1865, S. 170.

wässerigen Auszug frischer Muskeln eine zu alkoholischer Gährung fähige Substanz vorhanden sei. Pavy[1]) hat mit Alkohol aus den Muskeln eine Substanz extrahirt, deren reducirende Fähigkeit sich nach Behandeln mit Schwefelsäure verdoppelte. Andere analytische Data hinsichtlich des von ihm aufgefundenen Körpers theilt Pavy nicht mit, hält jedoch die Annahme für möglich, dass der reducirende Stoff in den Muskeln Maltose sei. Aus dieser kurzen Litteraturübersicht ersieht man, dass einerseits die Meinungen über die Zuckerproduction in den Muskeln einander vollkommen widersprechen, andrerseits die analytischen Data mangelhaft und ungenau sind. Es rührt dies daher, dass wir bis in die letzte Zeit keine guten Methoden besassen, um aus irgend einem Organ oder einer Flüssigkeit den Zucker abzuscheiden, falls er in geringer Quantität und neben einer grossen Menge anderer Extractivstoffe vorhanden ist. Heute versprechen Untersuchungen in diesem Gebiete der Physiologie Dank der unlängst entdeckten Methoden ein bestimmteres Resultat.

Ich habe die Zuckerproduction in den Muskeln des Hundes, des Welses und des Hechtes untersucht. Hunde wurden nach dem Chloroformiren durch Aderlass aus der Carotis getödtet. Die Muskeln wurden möglichst vom ganzen Körper abgeschnitten, mit der Fleischhackmaschine fein zerkleinert, mit heissem Wasser ausgezogen und durch Leinwand ausgepresst. Das Ausschneiden und Zerkleinern der Muskeln und das Erwärmen des Extractes bis zum Aufkochen verlangte gewöhnlich 1 1/2 bis 2 Stunden. Zu dem auf ein kleines Volumen eingeengten Auszuge wurde das drei- bis vierfache Volumen 95proc. Alkohols hinzugefügt, der Niederschlag abfiltrirt und auf Glycogen untersucht. Dies war in allen Muskeln, die ich auf Zucker untersucht habe, vorhanden. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade bei mässiger Temperatur zur Syrupconsistenz eingedampft. In letzterem musste der Zucker neben anderen Stoffen vorhanden sein. Zum Nachweis seines Vorhandenseins benutzte ich verschiedene

---

[1]) Lancet. vol. 11, 1881, S. 5 und 43.

Methoden. Daher waren die weiteren Operationen in jedem einzelnen Experiment verschieden. Ein Gährungsversuch mit den Extracten aus 1—2,5 Kilo Hundemuskeln gibt negative Resultate. Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt. Der Syrup wurde zum krystallisiren hingestellt, von dem sich abscheidenden Kreatin getrennt, mit einer geringen Menge Wasser versetzt und 24 Stunden lang mit Hefe stehen gelassen. Im Verlauf dieser Zeit wurde keine Gasentwicklung wahrgenommen, während in einem Kontrollversuch mit Traubenzucker lebhafte Gährung eintrat. Wenn man zum Muskelextracte Traubenzucker hinzufügt, so bekommt man nach 3 Stunden eine lebhafte Gährung. Daraus folgt, dass die Abwesenheit der Gährung in dem Muskelauszug nicht davon abhing, dass in ihm neben dem Traubenzucker oder der Maltose ein Stoff enthalten war, der giftig auf den Hefepilz einwirkte, sondern die Ursache lag offenbar darin, dass in dem Extracte entweder gar kein Zucker oder nur eine so geringe Menge davon enthalten war, dass er durch die Gährung nicht entdeckt werden konnte, da die CO_2 durch die Flüssigkeit absorbirt wurde. Wenn der Syrup, mit einer geringen Menge Wasser versetzt, nach E. Fischer[1]) mit essigsaurem Phenylhydrazin behandelt wird, so geht die Reaction folgendermassen vor sich. Bei Zimmertemperatur bildet sich kein Niederschlag, beim Erwärmen auf dem Wasserbade scheiden sich zuerst braune Flocken ab, nach 45 Minuten gelbe Krystalle in Form von Nadeln, deren Menge sich beim ferneren Erwärmen vergrössert. Nach 2—2$^1/_2$stündigem Erwärmen vergrössert sich die Menge des Niederschlages beim Abkühlen bis zur Zimmertemperatur nicht mehr. Bei der mikroskopischen Untersuchung erwies sich der Niederschlag als aus gelben Nadeln und aus einer braunen amorphen Substanz bestehend. Um das Osazon zu reinigen, wurde der Niederschlag abfiltrirt und zuerst mit kaltem, dann mit heissem Wasser ausgewaschen, sodann getrocknet und entweder mit Chloroform oder mit 95 proc. Alkohol ausgewaschen. Hierbei lösst sich der grösste Theil der braunen Producte auf

[1]) Berichte. 17. 579.

und nach drei- bis viermaligem Umkrystallisiren aus kochendem 60proc. Alkohol wird ein gelber Niederschlag erhalten, der theils aus mit Nadeln besetzten Kugeln, theils aus feinen zu Büscheln vereinigten Krystallen besteht. Diese fangen bei 193—196° an sich zu bräunen, schmelzen unter Gasentwicklung und zeigen folgende Zusammensetzung:

I. 0,1815 gr. gaben 0,395 gr. Kohlens. — 0,107 gr. Wasser.
II. 0,176 gr. gaben 0,3835 gr. Kohlens. — 0,104 gr. Wasser.
III. 0,163 gr. gaben bei 757,5 mm. Barom. und 18,5° 22 cbcm. Stickstoff.

	Gefunden:			Berechnet für $C_{18}H_{22}N_4O_4$:
C =	59,35	59,42	— %	60,33 %.
H =	6,54	6,56	— »	6,14 »
N =	—	—	15,79 »	15,64 »

Da die erhaltene Substanz sich nur durch den C-Gehalt von dem Glucosazon unterscheidet und auf Grund ihres Verhaltens zu Alkohol, ihres Schmelzpunktes und ihres N-Gehaltes mit dem Phenylglucosazon als identisch erscheint, so vermuthe ich, dass seine Reinigung mittelst Umkrystallisiren aus Alkohol nicht genügend bewerkstelligt werden könne. Ich führte es desshalb behufs völliger Reinigung nach dem Verfahren von E. Fischer[1]) in Glucoson über, welches letztere dann wieder in das Glucosazon verwandelt wurde. Zu diesem Zwecke wurden 1,4 gr. Glucosazon, das aus einer grossen Portion Muskelfleisch erhalten, mit Alkohol gewaschen und aus 60proc. Alkohol zweimal umkrystallisirt worden war, mit 25 cbcm. einer Salzsäure von 1,10 spec. Gew. durchgeschüttelt, dann eine Minute lang auf 45° erwärmt, darauf rasch bis Zimmertemperatur abgekühlt und 10 Minuten stehen gelassen, schliesslich im Verlauf von 1/4 Stunde bis auf — 2° abgekühlt und dann filtrirt. Der Rückstand wurde mit einer geringen Menge Salzsäure ausgewaschen. Das Filtrat wurde mit dem fünffachen Volumen Wasser verdünnt und mit Bleicarbonat neutralisirt. Schliesslich wurde die Lösung entbleit und mit 4,0 gr. essigsauren Phenylhydrazins versetzt. Die Reaction

[1]) Berichte, Bd. 22, S. 87.

begann schon bei gewöhnlicher Temperatur. Nach $1^1/_2$stündigem Erhitzen auf dem Wasserbade und zweimaligem Umkrystallisiren aus 60proc. Alkohol wurden nadelförmige Krystalle erhalten, die bei 194° schmolzen[1]) und folgende Zusammensetzung hatten:

0,1595 gr. gaben 0,352 gr. CO_2 und 0,093 H_2O.

	Gefunden:	Berechet für $C_{18}H_{22}N_4O_4$:
C =	60,18 %	60,33 %.
H =	6,47 »	6,14 »
N =	— »	15,64 »

Auf Grund aller ihrer physikalischen und chemischen Eigenschaften muss man die erhaltene Substanz für identisch halten mit Phenylglucosazon. Es folgt hieraus, dass die Glucose ein constanter Bestandtheil der Hundemuskeln ist. Es handelt sich nun darum, ihre Quantität in denselben festzustellen. Offenbar ist dieselbe sehr gering. Denn in einem Auszuge aus 2 Kilo Fleisch konnte man durch Einwirkung von Hefe keine merklichen Mengen von CO_2 erhalten. Um, freilich nur annähernd, zu ermitteln, wie viel Zucker in den Muskeln eines Hundes in verschiedenen Zeiträumen nach dem Tode enthalten ist, bediente ich mich ebenfalls der Reaction mit Phenylhydrazin. Nach E. Fischer ist die Ausbeute bei der Bildung von Glucosazon 85—90 % der angewandten Dextrose, wenn man auf 1 Theil Dextrose 2 Theile salzsaures Phenylhydrazin und 3 Theile essigsaures Natron (oder 2 Theile essigsaures Phenylhydrazin) und 20 Theile Wasser anwendet und $1^1/_2$ Stunden erhitzt. In meinen Versuchen waren die Reactionsbedingungen ein wenig verschieden von den eben genannten. Die Menge des Zuckers war mir unbekannt Um den E. Fischer'schen Vorschriften möglichst nahe zu kommen, fügte ich zu dem eingeengten Muskelextract soviel Phenylhydrazin, dass dasselbe 5 % des gegebenen Volumens ausmachte (entsprechend = 10 % essigsaures Phenylhydrazin). Da die Muskelextracte auf 100 bis 200 cbcm. eingeengt wurden, bildete das hinzugefügte Phenylhydrazin einen bedeutenden

[1]) Nach meinen Untersuchungen schmilzt das Phenylglucosazon bei vorsichtigem Erhitzen zwischen 193 und 196°.

Ueberschuss gegenüber dem Zucker, der sich in denselben befinden konnte. Darauf musste das Osazon mit Alkohol ausgewaschen werden. Um festzustellen, wie viel Glucosazon sich unter diesen Bedingungen bilden würde, stellte ich folgende Versuche an. Zu 100 cbcm. einer 0,9 proc. Dextroselösung wurden 5 cbcm. Phenylhydrazin hinzugefügt nebst ebenso vieler 50 proc. Essigsäure. Das Gemisch wurde ca. 2 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt, nach dem Erkalten der Niederschlag mit heissem Wasser ausgewaschen, getrocknet und mit annähernd derselben Menge Alkohol ausgewaschen, welche zum Auswaschen des aus den Muskeln gewonnenen Osazons verwandt worden war. Zuletzt wurde der Niederschlag im Vacuum getrocknet. Es wurden zwei Parallelversuche ausgeführt. Das gewonnene Glucosazon betrug 89 und 99 % der angewandten Dextrose. In einem anderen Versuche nahm ich 100 cbcm einer 0,35 proc. Dextroselösung. Die Abscheidung der Osazonkrystalle begann nach 45 Minuten dauerndem Erwärmen. Im Uebrigen war das Verfahren dasselbe wie oben. Das gewonnene Osazon betrug 64—68 % der angewandten Dextrose. Nimmt man noch verdünntere Lösungen von Dextrose z. B. von 0,1 %, so erhält man ganz geringe Mengen von Glucosazon. Demnach ist es unmöglich, auf diese Weise die Menge der Glucose zu bestimmen. Doch betrug die Menge des in meinen Versuchen gefundenen Glucosazons annähernd 64—99 % des in den Muskeln vorhandenen Zuckers. Die Bestimmung der Menge der Dextrose in den Muskeln gab folgende Resultate. Aus 8 Kgr. von Muskeln verschiedener Hunde (die Muskeln jedes Hundes wurden besonders verarbeitet) wurde 0,462 = 0,006 % Osazon gewonnen. In diesem Versuche dauerte die vorläufige Behandlung bis zum Sieden des Wassers ½ Stunde. Aus 2 Kgr. Muskeln, die nach zweistündigem Erstarren in Arbeit genommen waren, wurde nur eine unbedeutende Quantität Osazon erhalten. Aus 2,5 Kgr., 4 Stunden nach dem Erstarren verarbeitet, wurde 0,36 oder 0,015 % Osazon erhalten. Aus 2 Kgr., 20 Stunden nach Erstarrung in Arbeit genommen, wurden 0,24 gr. oder 0,012 % erhalten. Die in den Muskelextracten durch Phenylhydrazin

erhaltenen Niederschläge enthalten ohne Zweifel noch andere Derivate des Phenylhydrazins, Osazone, Hydrazone, Hydrazine etc. Nehmen wir indess an, dass dieselben ausschliesslich aus Glucosazon bestehen und dass in meinen Versuchen das Gewicht des Glucosazons nur der Hälfte der vorhandenen Dextrose entspricht, so würden in unseren Hundemuskeln zu verschiedenen Zeiten nach dem Tode nicht mehr als 0,01 bis 0,03 % Dextrose enthalten sein. Diese geringe Quantität Zucker berechtigt zu der Annahme, dass in den Muskeln selbst kein Zucker enthalten war, sondern dieser dem in denselben zurückgehaltenen Blute zuzuschreiben sei, das ja bei gesunden Thieren stets Zucker enthält. Um mich von der Richtigkeit dieser Annahme zu überzeugen, stellte ich folgende Versuche an. Ein chloroformirter Hund wurde durch Aderlass aus der Carotis getödtet und darauf seine hinteren Extremitäten mit einer auf 40° erwärmten physiologischen Kochsalzlösung ausgewaschen. 2 Stunden später wurden die ausgewaschenen Muskeln abgeschnitten und auf obige Weise verarbeitet. Aus 1,7 Kgr. Muskeln wurden 0,065 gr. Glucosazon erhalten, aus 60 proc. Alkohol umkrystallisirt hatte dies den Schmelzpunkt 193°. Aus diesem Versuche ergiebt sich nun, dass der Zucker in den Hundemuskeln sich selbst gebildet hatte und nicht aus dem Blute herrührte. Die Bildung des Zuckers in den Muskeln ist besonders leicht bei den Kaltblütern nachzuweisen. Dies kann man aus den Versuchen ersehen, die ich zu diesem Zwecke an den Muskeln des Welses und des Hechtes angestellt habe. Zum Versuche nahm ich 1375 gr. Muskeln von einem Welse, der im Winter gefangen und gefroren nach Kasan gebracht wurde. Das Extract bereitete ich wie oben angegeben. Es wurde eingeengt und mit Alkohol gefällt. Im Niederschlag befand sich das Glycogen. Das Filtrat wurde mit Bleizucker gefällt. Darauf wurde das überschüssige Blei mit H_2S entfernt und das Filtrat erst auf dem Wasserbade, dann im Vacuum auf ein kleines Volumen eingeengt. Diese Lösung reducirte die Fehling'sche Flüssigkeit ohne Abscheidung von Kupferoxydul. Mit Phenylhydrazin bildete sich nach 15 Minuten

anhaltendem Erwärmen ein gelber krystallinischer Niederschlag. Das Erwärmen wurde 2 Stunden lang fortgesetzt. Hierauf wurde der Niederschlag mit heissem Wasser behandelt und abfiltrirt, sodann mit Alkohol gewaschen, dann aus 60proc. Alkohol umkrystallisirt. Das Gewicht des so gereinigten Glucosazons betrug 1,0 gr. Das Glucosazon wurde noch einmal aus Alkohol umkrystallisirt. Es bildeten sich gelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 195°. Ihre Zusammensetzung war:

0,1655 gr. gaben 0,367 gr. CO_2 und 0,097 gr. H_2O.

		Gefunden:	Berechnet für $C_{18}H_{22}N_4O_4$:
C	=	60,42 %	60,33 %.
H	=	6,51 »	6,14 »

Demnach entsteht in den Muskeln des Welses gleichfalls Glucose, aber in grösserer Quantität (ca. 0,1 %) als in den Hundemuskeln.

Diese Versuche geben keinen Aufschluss über eine andere interessante Frage, nämlich nach der Art des Zuckers. Denn Glucosamin und Isoglucosamin geben mit Phenylhydrazin dasselbe Glucosazon. Um auch diese Frage zu beantworten, versuchte ich den in den Muskeln sich bildenden Zucker in Form des Benzoesäureesters abzuscheiden. Nach der von mir[1]) modificirten Methode von Baumann ist es ziemlich leicht, vollständige Aether der einfachen Kohlenhydrate zu erhalten, die sich von einander durch einige physikalische Eigenschaften, Schmelzpunkt und Krystallform unterscheiden, so dass man sie charakterisiren kann. Ich verwandte zur Abscheidung des Zuckers als Benzoesäureester wiederum Muskeln vom Hund und vom Wels. Der Extract von 4 kgr. Hundemuskeln (die vorläufige Behandlung dauerte 2 Stunden) wurde concentrirt, mit Alkohol gefällt, das Filtrat mit Bleizucker gefällt, das überschüssige Blei mit H_2S entfernt, das Filtrat bis zum Syrup concentrirt, dieser in einer kleinen Menge Wasser aufgelöst und mit 60 cbcm. Benzoylchlorid und 480 cbcm. 20proc.

---

[1]) Journal der Russ. Chem. Gesellschaft, 1891, XXIII..

NaOH durchgeschüttelt. Das Product der Reaction mit Benzoylchlorid war ein Gemisch, aus dem es mir nicht gelang, einen Benzoesäureester irgend eines Kohlenhydrates zu isoliren, wahrscheinlich wegen der geringen Quantität desselben. (Ich konnte eine Substanz isoliren mit dem Schmelzpunkt 256—257, die in langen Nadeln krystallisirte, Kupferoxyd nicht reducirte und sich in kochendem Alkohol schwer löste. Ein geringer Theil des Produkts lösste sich gar nicht in Alkohol. Der in Alkohol lösliche Theil reducirte Kupferoxyd.) Ein bestimmtes Resultat erhielt ich bei den Muskeln des Hechtes. 1500 gr. gefrorener Hechtmuskeln wurden wie oben behandelt. Die Benzoylirung bewirkte ich mit 25 cbcm. Benzoylchlorid und 200 cbcm. 20proc. Natronlauge. Der erhaltene Niederschlag wurde bis zum folgenden Tage stehen gelassen, abfiltrirt, mit Wasser gewaschen und in kochendem 95proc. Alkohol aufgelöst. Nach dem Erkalten schied sich ein amorpher Niederschlag ab, der noch zwei Mal aus einem Gemisch von Alkohol und Chloroform umkrystallisirt wurde. Es wurde so eine geringe Quantität nadelförmiger Krystalle erhalten, die der Form nach den Krystallen der 5-Benzoyldextrose gleich waren, den Schmelzpunkt 165 [1]) besassen und Kupferoxyd reducirten. Aus diesem Grunde halte ich mich für berechtigt, diese Krystalle für identisch mit 5-Benzoyldextrose zu halten.

Ueber die Bildung von Maltose in den Muskeln.

Oben wurde erwähnt, dass Pavy in den Muskeln die Gegenwart von Maltose vermuthet. Obgleich seine Beweisführung unzulänglich ist, ist doch die Bildung von Maltose in den Muskeln nicht unmöglich. Zur Bestimmung derselben bediente ich mich ebenfalls des Phenylhydrazins. Das Maltosazon kann von dem Glucosazon durch heisses Wasser getrennt werden, das erstere löst sich darin, das letztere nicht. Ausserdem unterscheidet sich das Maltosazon von dem Glucosazon durch die chemische Zusammensetzung und den Schmelzpunkt. Bei langsamem Erhitzen schmilzt es bei 184°.

---

[1]) Die 5-Benzoyldextrose hatte zweimal aus dem Alkohol-Chloroform-Gemisch umkrystallisirt den nämlichen Schmelzpunkt.

Um Maltosazon in genügender Menge zu erhalten, habe ich in allen Versuchen mit Muskeln, wo Phenylhydrazin angewandt wurde, die mit diesem entstehenden Niederschläge erst mit kaltem, dann mit heissem Wasser behandelt. Aus dem heissen Wasser schied sich beim Erkalten ein zum Theil amorpher, zum Theil krystallinischer Niederschlag ab. Diese von etwa 12 Kilo Hundemuskeln erhaltenen Niederschläge wurden vereinigt und nochmals mit heissem Wasser behandelt, worin sie sich nicht vollkommen lösten. Aus dem Filtrat schied sich beim Erkalten ein gelber, amorpher Niederschlag ab. Dieser bräunte sich beim Trocknen im Vacuum und schmolz bei 135°. Aus den Welsmuskeln erhält man bei einer solchen Behandlung eine geringe Menge feiner, nadelförmiger Krystalle von gelber Farbe, die bei 115° anfangen zu schrumpfen und bei 153—5° schmelzen. Auf Grund dieser Versuche muss man annehmen, dass in den Muskeln sich keine Maltose bildet.

Somit bildet sich in den Muskeln von allen Zuckerarten nur eine, die Dextrose, bei den Warmblütern in sehr geringer Menge, bei den Kaltblütern in bedeutenderer. Ausserdem beobachtet man in den Hundemuskeln eine andere interessante Erscheinung. Die Zuckermenge in den Muskeln vergrössert sich nicht merklich post mortem, wie dies in der Leber geschieht. Es scheint demnach, als ob in den Muskeln beim Erstarren ein fermentativer Process stattfände, der mit dem Leben zugleich erlischt, infolge dessen die Quantität der Producte seiner Thätigkeit constant bleibt. Betrachten wir jedoch den Zustand eines anderen Bestandtheils des Muskels, des Glycogens post mortem. Denn aus diesem allein kann sich die Dextrose im Muskel bilden. Wir sehen dann, dass der Gehalt an Glycogen im Muskel nach dem Tode sich in jeder Stunde verringert. Wenn das gesammte verschwindende Glycogen zu Dextrose verwandelt würde, so hätten wir in den Muskeln, besonders 20 Stunden nach dem Tode, eine bedeutende Quantität Zucker. Zum Beweise führe ich die schon von mir veröffentlichten Versuche an. In einem Falle enthielten die Muskeln eines Hundes eine halbe Stunde nach

dem Tode 0,92 %, nach vier Stunden 0,63 %, nach 24 Stunden Spuren von Glycogen. In einem anderen Falle fanden sich 25 Minuten nach dem Tode 0,93 %, nach 1 ½ Stunden 0,76 %, nach 6 Stunden 0,50 %, nach 24 Stunden 0,16 %. Folglich musste in beiden Fällen sich nach 24 Stunden in den Muskeln auf 100 gr. ca. 1,0 gr. Zucker bilden, also auf 2 kgr. ca. 20,0 gr. Zucker, vorausgesetzt dass das ganze verschwundene Glycogen in Dextrose verwandelt wurde. Ich habe dagegen stets nur ganz unbedeutende Quantitäten von Zucker in den Muskeln gefunden. Es muss daher angenommen werden, dass sich aus Glycogen oder Dextrose in den Muskeln eine andere Substanz bildet. Auf Grund der von Vielen nachgewiesenen Thatsache, dass sich die Milchsäure in den Muskeln post mortem vermehrt, muss man annehmen, dass die Quelle dieser Vermehrung in dem Glycogen zu suchen ist, soweit es sich um Kohlenhydrate handelt. Den ganzen fermentativen Process in den Muskeln stellte ich mir folgendermassen vor. Aus dem Glycogen bildet sich zunächst Traubenzucker und aus diesem bald darauf Milchsäure, die keine weiteren Umwandlungen mehr erleidet. Darum vergrössert sich die Menge der Milchsäure mit jeder Stunde nach dem Tode des Thieres, die Quantität des Glycogens wird geringer, während die Menge der Dextrose sich fast gar nicht verändert, da die aus dem Glycogen gebildete Dextrose sich fortwährend in Milchsäure verwandelt.

Die Bildung der Milchsäure in den Muskeln aus Glycogen wurde a priori von Vielen wie oben erklärt, doch fehlten dieser Ansicht Beweise a posteriori. Die Anwesenheit des Traubenzuckers in den Muskeln, des Mittelgliedes zwischen Glycogen und Milchsäure, war noch nicht bewiesen.

Zur Kenntniss der Säuren der Rindergalle.

Von

Lassar-Cohn.

(III. Mittheilung.)

(Der Redaction zugegangen am 18. Januar 1893.)

Die Untersuchung der in der zweiten Mittheilung erwähnten, als Nebenproduct bei der Cholalsäuredarstellung erhaltenen Baryumsalze[1]) ist nunmehr beendigt. Es folgt aus ihr, dass weitere krystallisirte Säuren, deren Vorkommen in der Galle nicht bekannt war, sich in ihr nicht finden. Sie ermöglicht aber, wie wir sehen werden, eine ziemlich quantitative Schätzung dieser.

Die Baryumsalze waren, wie seiner Zeit mitgetheilt wurde, in Natriumsalze übergeführt und deren Lösung wiederum mit Baryumacetat fractionirt gefällt worden, was zur Auffindung der Myristinsäure geführt hatte. Doch war auf diese Art nur ein geringer Theil der Säuren wieder ausfällbar gewesen, fortgesetzter Baryumacetatzusatz rief neue Fällungen nicht mehr hervor, und da auch kein passendes Mittel zur weiteren Fractionirung sich finden liess, wurden die noch in der Lösung vorhandenen Säuren mittelst Salzsäure ausgefällt. Der Niederschlag stellte ein hellbraunes Harz dar, das sich in nichts äusserlich von roher Cholalsäure unterschied.

Zwecks Reinigung wurde es unter Thierkohlenzsatz aus Eisessig, in dem es sich als leicht löslich erwies, umkrystallisirt. Die erste Ausscheidung wog 40 gr. und war kaum gefärbt. Darauf wurde die Mutterlauge auf freiem Feuer ziemlich stark

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 67.

eingedampft, und nach 14 Tagen konnten aus ihr durch Absaugen an der Pumpe 22 gr. von den gleichen Krystallen gewonnen werden. Die jetzt noch vorhandene Mutterlauge lieferte auch bei langem Stehen nach weiterem Eindampfen keine Krystalle mehr.

Das so erhaltene Product liess sich sehr gut aus Aceton umkrystallisiren, während es in Chloroform, Essigester, Petroläther, Schwefelkohlenstoff so gut wie unlöslich war, und Phenol es zwar massenhaft löste, ohne es indess beim Abkühlen und längerem Stehen in krystallisirter Form wieder abzuscheiden. Auch Aceton lieferte es nur in Krusten, während, wenn man diese Lösung mit Toluol versetzt, es in Einzelkrystallen anschiesst, die, wenn die Lösung viele Monate gestanden hat, eine Grösse von etwa 0,5 cm. erreichen und grosse quadratisch ausgebildete Flächen zeigen.

Das ganze Verhalten der Substanz erinnerte durchaus au die von Latschinoff in der Galle aufgefundene Choleïnsäure[1]), mit der sie sich denn auch identisch erwies. Da Latschinoff gezeigt hat, dass die Säure sicher nur wasserfrei erhalten wird, wenn man sie aus Eisessig umkrystallisirt und die erhaltenen Krystalle von ihm bei etwa 100° im luftleeren Raume befreit, wurden die aus Aceton und Toluol gewonnenen Krystalle noch dreimal aus diesem umkrystallisirt, und dann in der angegebenen Art bis zur Gewichtsconstanz getrocknet. Aus Eisessig krystallisirt die Säure in einem Haufwerk von Nadeln. In kaltem Eisessig ist sie nicht sehr löslich, kaltes Aceton löst 2,152 Proc., ein Gemisch gleicher Theile Aceton und Toluol nur 0,06 Proc. von ihr.

0,2587 gr. Substanz gaben 0,6988 gr. Kohlensäure und 0,2336 gr. Wasser.

	Berechnet für $C_{24}H_{40}O_4$:	Gefunden:
C	73,47	73,67.
H	10,21	10,00.

Latschinoff hat der von ihm entdeckten Choleïnsäure seiner Zeit die Formel $C_{25}H_{42}O_4$[2]) gegeben, indem er sich

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 18, S. 3041.
[2]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 20, S. 1052.

namentlich auf die analytischen Ergebnisse, zu denen Hammarsten[1]) bei der Untersuchung der Dehydrocholsäure gekommen war, stützend in dieser und damit auch in der Cholalsäure 25 Kohlenstoffatome annahm. Aus den vom Verfasser[2]) dargelegten Gründen mussten aber die Analysen der aus Alkohol umkrystallisirten Dehydrocholsäure, weil diese, wenn sie aus diesem Medium umkrystallisirt wird, theilweise in ihren Aethylester übergeht, — und zu den Analysen war ein auf diesem Wege gereinigtes Material verwendet worden —, einen zu hohen Kohlenstoffgehalt ergeben. Damit fällt denn die Hauptstütze, die Latschinoff für die Berechnung seiner Formel aus den Analysenzahlen anführt, fort. Bei der hochmolecularen Zusammensetzung der Säure weichen die Zahlen auch nicht viel von den für seine Formel geforderten ab. Die Elementaranalyse allein vermag eben in solchen Fällen nicht zur Aufstellung einer unanfechtbaren Formel zu führen, wie es die reichlich vorliegenden Analysen in diesem Falle wieder beweisen.

Die Choleïnsäure ist nämlich, wie Latschinoff in ausgezeichneter und unanfechtbarer Weise[3]) bewiesen hat, identisch mit einem der Cholalsäure noch sehr nahestehenden Reductionsproducte dieser. Mylius[4]) hat nämlich aus letzterer, indem er sie mit Pancreas faulen liess, eine von ihm als Desoxycholsäure bezeichnete Säure erhalten, welche um ein Atom Sauerstoff ärmer ist als das Ausgangsmaterial. Da nun diesem jetzt ohne allen Zweifel die Formel $C_{24}H_{40}O_5$ zukommt, kann die Formel des Reductionsproducts nur $C_{24}H_{40}O_4$ sein, und weil es identisch mit der Choleïnsäure ist, kann die letztere ebenfalls nur diese Formel haben.

Die Choleïnsäure[5]), welche Bezeichnung wohl der der Desoxycholsäure vorzuziehen ist, und die daher passend auf

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 14, S. 72.
[2]) » » » » » Bd. 25, S. 805.
[3]) » » » » » Bd. 20, S. 1046.
[4]) » » » » » Bd. 19, S. 376.
[5]) Man hat in älterer Zeit mit diesem Namen die jetzt Taurocholsäure genannte Verbindung belegt. Nachdem dies aber so gut wie gänz-

diese übertragen wird, um zwei identische Körper auch mit demselben Namen zu belegen, ist von Latschinoff bereits in die zugehörige Dehydrocholeïnsäure übergeführt worden, indem er sie, ganz wie Hammarsten die Cholalsäure, mit einer Lösung von Chromsäure in Eisessig oxydirte. Eine Wiederholung des Versuches führte zu denselben Resultaten und ist den Angaben Latschinoff's nichts hinzuzufügen, nur ist aus den vorhin angegebenen Gründen die Formel dieser Säure $C_{24}H_{34}O_4$. Im Gegensatz zur Dehydrocholsäure verestert diese Verbindung auch bei tagelangem Kochen mit Alkohol nicht.

In den Petersburger Gallen finden sich nach Latschinoff's Angaben bis 33 Proc. von ihr vom Gewichte der Gallensäuren. Ich habe von ihr, wie erwähnt, nur ca. 60 gr. erhalten, zu denen später aus den Mutterlaugen noch etwa 25 gr. hinzukamen (siehe weiterhin). Da das Ausgangsmaterial 100 Liter Galle betragen hatte, macht das nur 0,085 Proc. aus, während in den Latschinoff zur Verfügung stehenden Gallen zu Folge der weiterhin zu gebenden Berechnung ca. 1,6 Proc. von ihr, also etwa die 19 fache Menge, enthalten gewesen ist, wonach es nicht auffallend erscheinen kann, dass sie von anderen, denen in Bezug auf sie so hochprocentige Gallen nicht zur Verfügung standen, bisher nicht aufgefunden worden ist.

In älteren Zeiten, in denen man die Zerlegung der gepaarten Gallensäuren mittelst Fäulniss bewirkte, mag sie allerdings mancher für sich oder mit Cholalsäure gemengt in Händen gehabt, aber mit dieser verwechselt haben.

Dies ist die zweite Bestätigung der Thatsache, dass Rindergallen verschiedenen Ursprungs sehr verschieden zusammengesetzt sein können. So hat bekanntlich Hüfner zuerst gefunden, dass die Galle der Tübinger Gegend nach dem Ansäuern mit Salzsäure und Ueberschichten mit Aether sehr bald ohne weiteres grosse Mengen krystallisirter Glycocholsäure liefert, welches Verhalten nur der Galle jener Gegend

---

lich in Vergessenheit gerathen ist, kann man, wie ich glaube, diesen Namen für die zuerst von Latschinoff dargestellte und von ihm sobenannte Säure aus der Galle beibehalten.

eigenthümlich ist. Emich[1]) constatirte dann, dass man anderwärts die Hüfner'sche Reaction ganz einfach aus dem Grunde nicht erhält, weil die Gallen entweder keine oder nur wenig mehr Glycocholsäure enthalten, als wie durch den Zusatz von Taurocholsäure zu lösen ist, welche das einzig auffindbare Agens ist, das die Abscheidung der Glycocholsäure einigermassen zu hindern vermag.

Es ward nunmehr zur Untersuchung der Mutterlauge der Choleïnsäure übergegangen, in der noch etwaige weitere unbekannte Säuren enthalten sein mussten. Sie wurde nach starkem Verdünnen mit Natronlauge neutralisirt, und die erhaltene wässerige Lösung fractionirt mit Salzsäure ausgefällt. Die erhaltenen 6 Fällungen wurden aus Eisessig umzukrystallisiren versucht. 1 und 2 blieben ganz harzig, 3—6 gaben in Harz eingebettete Spuren von Krystallen. 1 und 2 wurden darauf wiederum in Natronlauge gelöst, und nach dem Einleiten von Kohlensäure auf dem Wasserbade zur Trockne gedampft. Alkohol extrahirte nunmehr das organisch saure Natriumsalz. Ein geringer Zusatz von alkoholischer Bleizuckerlösung entfärbte die Lösung bedeutend, aus der die Säure darauf mit Salpetersäure wieder ausgefällt wurde. Versuche, das erhaltene Harz aus Aceton umzukrystallisiren, führten wiederum nicht zum Ziele; darauf wurde es mit Barytwasser ausgekocht. Aus der nach dem Entfernen des überschüssigen Baryts eingedampften Lösung krystallisirte ein Salz, welches sich als cholalsaures Baryum erwies. Gefunden 14,19 Proc. Ba statt 14,40 Proc. Es verdankte seine Anwesenheit in der Mutterlauge jedenfalls dem Umstande, dass es nicht möglich gewesen war, jene grossen Faltenfilter, auf denen einst die fremden Baryumsalze gesammelt worden waren, auszuwaschen. Die aus dem Salz freigemachte Säure gab mit einer Lösung von Jod in Jodkalium die für Cholalsäure charakteristische Blaufärbung.

Das neben dem cholalsauren Baryum entstandene wasserunlösliche Baryumsalz lieferte bei seiner Wiederzerlegung 3,5 gr. eines nicht zum Krystallisiren zu bringenden Harzes.

---

[1]) Monatshefte für Chemie, Bd. 3, S. 335.

Portion 3—6 wurden schliesslich zusammen in der gleichen Art verarbeitet. Die erhaltene alkoholische Lösung der Natriumsalze erwies sich als durch die meisten üblichen Fällungsmittel nicht fällbar. Nur mittelst alkoholischer Kupferchloridlösung konnten vier fractionirte Fällungen erhalten werden. Die aus ihnen wieder in Freiheit gesetzten Säuren erwiesen sich als durchaus unkrystallisirbar. Das Gesammtgewicht dieser Harze betrug ca. 90 gr.

Nachdem aus der mit Kupferchlorid versetzten Lösung auf weiteren Zusatz nichts mehr ausfiel, wurde sie mit Natriumcarbonat zur Trockne gedampft, und Wasser zog jetzt wieder die löslichen Natriumsalze aus. Auf Säurezusatz fielen 64 gr. Harz aus. 120 cbcm. Normalnatronlauge brachten das Harz in Lösung, und die viermalige Zugabe von je 30 cbcm. Normalschwefelsäure lieferte 4 Niederschläge, die nicht krystallisirt zu erhalten waren. Sie wurden darauf in eisessigsaurer Lösung mit Chromsäure oxydirt. Hierbei lieferten 1 und 2 fast reine Dehydrocholsäure. Diese wurde identifizirt: a) durch den Schmelzpunkt, b) durch ihre Veresterung beim Kochen mit Alkohol und c) durch Analyse des bei 100° getrockneten Baryumsalzes. (Berechnet 14,59 Ba gefunden 14,51 Ba).

Portion 3 ergab Dehydrocholeïnsäure, deren Baryumsalz ebenfalls analysirt wurde.

0,1823 gr. Substanz gaben 0,0100 Wasser und 0,0427 $BaSO_4$.

	Berechnet für $(C_{24}H_{33}O_4)_2Ba + 3H_2O$:	Gefunden:
Ba	14,26 %	13,77 %.
H_2O	5,61 »	5,48 »

Das Oxydationsproduct der Portion 4 war nicht zum krystallisiren zu bringen.

Man kann hieraus schliessen, dass die erwähnten 64 gr. Säure zu ca. 40 gr. aus Cholalsäure und Choleïnsäure bestanden, während der Rest unkrystallisirbares Harz war. Aus den Kupfersalzen waren 90 gr. Harz wieder abgeschieden worden, vorher erwähnt wurden 3,5 gr. Harz, im Ganzen erwiesen sich also etwa 120 gr. als unkrystallisirbar, was 0,12 Proc. des Rohmaterials entspricht.

Man ist auf Grund der bisherigen Mittheilungen im Stande den Durchschnittsgehalt der Galle an den in ihr vorkommenden Säuren mit genügender Genauigkeit festzustellen, wenn es gelingt, deren Gehalt an Cholalsäure selbst wenigstens bis auf Zehntel Procente genau zu bestimmen, denn eine directe Wägung der im krystallisirten Zustande erhaltenen Gesammtmenge dieser ist wegen der grossen Menge, die von ihr in den Mutterlaugen stecken bleibt, ganz werthlos.

Seiner Zeit[1]) zeigte sich, dass wenn man diese Mutterlaugen mit Chromsäure in Eisessig nach Hammarsten's Verfahren oxydirt, man aus ihnen Dehydrocholsäureäthylester erhält, und zwar in solchen Mengen, dass neben Cholalsäureester kaum noch etwas anderes in ihnen vorhanden sein kann. Der sichere Beweis hierfür ist jetzt in folgender Art erbracht.

25 gr. der alkoholischen Mutterlauge wurden auf dem Wasserbade völlig von Alkohol befreit, und dann durch Kochen mit Natronlauge in Lösung gebracht. Aus der Lösung wurden die in ihr vorhandenen Säuren in 6 Portionen nach einander ausgefällt. Alle sechs verhielten sich wie Cholalsäure, gaben die Jodreaction u. s. w. Um ganz sicher zu gehen, wurde Portion 6 noch zur Dehydrocholsäure oxydirt, und diese an ihrem Schmelzpunkt und der Eigenschaft, beim Kochen mit Alkohol theilweise zu verestern, identificirt, womit die Nichtanwesenheit sonstiger Säuren festgestellt ist.

Daraufhin wurden die Versuche zur quantitativen Bestimmung der Cholalsäure in der Galle folgender Art ausgeführt. 20 cbcm. Galle wurden mit 2 gr. festem Aetznatron 24 Stunden am Rückflusskühler im Sieden gehalten, dann wurde durch Kohlensäure das Aetznatron in Carbonat verwandelt und die so erhaltene Lösung auf dem Wasserbade möglichst zur Trockne gedampft. Zugabe von 96 Proc. Alkohol führt den Rückstand in ein leicht auswaschbares Pulver, das hauptsächlich aus Natriumcarbonat besteht, über. Es wird an der Pumpe so lange mit siedendem Alkohol gewaschen, bis dieser nach dem Verdünnen mit Wasser und Säurezusatz sich nicht mehr trübt. Die Untersuchung des im Wasser ge-

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 25. S. 806.

lösten Rückstandes zeigt dann, dass dessen Lösung ebenfalls durch Säurezusatz nicht mehr getrübt wird, das Auswaschen also wirklich quantitativ ist. Das alkoholische Filtrat, dessen Menge durchschnittlich 100 cbcm. beträgt, wird hierauf mit dem vierfachen Quantum Wasser verdünnt, und mit einer Lösung von 0,5 gr. Baryumchlorid in viel Wasser versetzt. Die hierdurch bewirkte Fällung wird abfiltrirt. Sie besteht aus fettsaurem und choleïnsaurem Baryum, sowie den Baryumsalzen der Harze. Das Filtrat hiervon wird mit Salzsäure angesäuert und die dadurch gefällte Cholalsäure mit Aether ausgeschüttelt. Während nämlich Cholalsäure in Aether kaum löslich ist, geht sie in Aetheralkohol leicht über. Abdampfen der Lösung und Trocknen des Rückstandes bis zur Gewichtsconstanz ergibt alsdann die Menge der Cholalsäure.

Die Methode soll später zu einer wirklich quantitativen ausgearbeitet werden, indem nicht die auf diesem Wege als Rückstand erhaltene Cholalsäure als solche gewogen, sondern sie vorher in ein möglichst unlösliches auswaschbares Salz von constanter Zusammensetzung, wozu eine genauere Untersuchung dieser nöthig ist, übergeführt werden soll.

Die Bestimmung des Cholalsäuregehalts einer Galle auf diesem Wege ergab 4,86 Proc., von einer anderen wurden zwei Bestimmungen neben einander gemacht, die 4,68 Proc. und 4;69 Proc. ergaben.

Die Berechnung des Gehalts der Galle an den verschiedenen Säuren ergibt nun Folgendes. Abgesehen von der Cholalsäure waren aus 100 Litern Galle 480 gr. rohe Natriumsalze[1]) erhalten worden. Da fettsaure Salze etwa 8 Proc., gallensaure etwa 6 Proc. Natrium enthalten, entspricht das ca. 445 gr. Säuren. Diese bestanden, wie im Vorhergehenden gezeigt, aus:

Choleïnsäure, kryst.	60 gr.
» in den Mutterlaugen .	25 »
Cholalsäure	40 »
Fettsäuren	150 »
Harzige Säuren . . . . . , . . .	120 »
Verlust . . . . , . .	50 »
	445 gr.

[1]) Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 68.

Im Durchschnitt erhalten 100 Liter Galle 4790 gr. Cholalsäure, zu denen also noch 405 gr. sonstige Säuren kommen. Berechnet man nun procentualiter das Verhältniss der einzelnen Säuren zur Gesammtmenge von 5195 gr., so ergibt sich, dass jenes Harz, als welches man die Cholalsäure erhält, wenn man die mit Natronlauge gekochte Galle in der angegebenen Art durch Säuren ausfällt, sich für die Galle hiesiger Gegend zusammensetzt aus:

Cholalsäure . , . .	92,204 %
Choleïnsäure . . .	1,636 »
Stearinsäure, Palmitinsäure, Oelsäure . .	2,811 »
Myristinsäure . . .	0,077 »
Harzige Säuren . .	2,309 »
	99,037 %
Verlust	0,663 »
	100,000 %

und der Procentgehalt der Galle an organischen durch Salzsäure fällbaren Säuren nach dem Kochen mit Natronlauge beträgt 5,195 Proc., die sich zusammensetzen aus:

Cholalsäure	4,790 %.
Choleïnsäure	0,085 »
Stearinsäure, Palmitinsäure, Oelsäure . . .	0,146 »
Myristinsäure	0,004 »
Harzige Säure . . .	0,120 »
	5,145 %.
Verlust	0,050 »

Königsberg. Institut für medicinische Chemie und Pharmakologie.

Ueber den Einfluss täglich einmaliger oder fractionirter Nahrungsaufnahme auf den Stoffwechsel des Hundes.

Von

Carl Adrian.

(Der Redaction zugegangen am 31. Januar 1893.)

Zahlreiche Stoffwechseluntersuchungen zielen darauf ab, die qualitativen und quantitativen Aenderungen zu analysiren, welche durch wechselnde Zufuhr verschiedener Nahrungsstoffe hervorgebracht werden und den zeitlichen Verlauf dieser Zersetzungsvorgänge und die Wiederabscheidung der Zerfallsproducte festzustellen, d. h. zu erforschen, innerhalb welcher Zeit sich diese Vorgänge im Organismus abspielen, beides Fragen, die nicht nur für den Physiologen, sondern auch für den praktischen Arzt und Kliniker von grösster Wichtigkeit sind.

Gänzlich unberücksichtigt scheint dagegen bis heutzutage geblieben zu sein die Frage über den Einfluss täglich einmaliger oder fractionirter Nahrungsaufnahme auf den thierischen Stoffwechsel, eine Frage, die besonders in hygienischer Hinsicht doch einiger Beachtung werth wäre. Dass diese ganze Frage mit der Ausnützung der Nahrung in innigstem Zusammenhange stehe, ist von vorneherein höchst wahrscheinlich. Die diesbezüglichen Arbeiten von Rubner[1]), Jessen[2]), Prausnitz[3]), Raudnitz[4]), Popoff[5]) u. A. nahmen

[1]) Zeitschr. f. Biolog., Bd. 15, 1879, S. 115. Ueber Ausnützung einiger Nahrungsmittel im Darmkanale des Menschen.

[2]) Ibid., Bd. 19. 1883, S. 129. Verdauungsdauer von Fleisch und Milch bei verschiedener Zubereitung.

[3]) Ibid., Bd. 25, 1889, S. 533. Ueber die Ausnützung der Kuhmilch im menschlichen Darmkanal.

[4]) Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. XIV, S. 1 und 325. Ueber die Verdaulichkeit gekochter Milch.

[5]) Ibid., Bd. XIV, S. 524. Ueber die Verdauung von Rind- und Fischfleisch bei verschiedener Zubereitung.

nur darauf Rücksicht, zu ermitteln, ob eine gewisse Nahrung besser ausgenützt würde als eine andere, ob dieselbe Nahrung besser resorbirt würde in rohem oder gekochtem oder gebratenem Zustande, lassen aber die Frage ganz ausser Acht, ob eine Nahrung täglich auf einmal genommen oder auf 24 Stunden vertheilt dem Organismus zuträglicher sei, und welche Aenderungen der Stoffwechsel bei solchem Verhalten aufweise, Fragen, die man im gewöhnlichen Leben ohne Weiteres zu Gunsten der fractionirten Nahrungsaufnahme entscheidet, ohne sich dabei auf Zahlen zu basiren und den gewaltigen Unterschied zwischen dieser und jener Art des Verhaltens festzustellen.

Dies zu erörtern und zugleich an der Hand von Zahlen die Schlüsse aus diesen zu ziehen, habe ich auf Anregung des Herrn Prof. Hoppe-Seyler während des S.-S. 1892 unternommen.

Von einer Vergleichung des Verhaltens bei verschiedener Nahrung wurde im Folgenden Abstand genommen und nur der einfachste Fall, das Verhalten bei reiner Fleischnahrung, in den Kreis der Betrachtung gezogen. Verwandt wurde eine ca. 12 kgr. schwere Hündin; die Nahrung bestand ausschliesslich in rohem Pferdefleisch, ohne Wasser, das von Fett und Sehnen befreit, ihr in Stücke geschnitten gereicht wurde.

Der Gang der Untersuchung war folgender:

I. Nach einigen Vorversuchen zur Erzielung eines konstanten Körpergewichtes, was nach 8 Tagen erreicht war, begann die Serie I mit Ernährung der Hündin mit 750 gr. Pferdefleisch, das täglich morgens 8 Uhr gereicht wurde. Der Versuchstag dauerte von 8 Uhr früh des einen Tages bis 8 Uhr früh des nächstfolgenden. Das Thier befand sich in einem mit Glasplatten ausgelegten Kasten, aus dem eine Abflussrinne sämmtlichen innerhalb 24 Stunden entleerten Urin in eine darunter stehende Schale ergoss. Die Serie dauerte 10 Tage.

II. Vom 11. Tage ab wurde dem Thier die Nahrung so gereicht, dass die 750 gr. Fleisch auf 4 mal pro die in gleichen

Portionen vertheilt wurde, und zwar Morgens 7 und 11, Nachmittags 3 und 7 Uhr. Die Aufnahme der Harnuntersuchung begann erst, nachdem sich das Thier mit dieser neuen Vertheilung der Nahrung abgefunden hatte, d. h. am 17. Tage der ganzen Untersuchung. Im Uebrigen wurde wie in Serie I verfahren, nur dass hier der Versuchstag von 7 bis 7 Uhr reichte. Die Serie dauerte 11 Tage.

III. Eine dritte Serie, in der die Nahrung wieder auf einmal gereicht wurde, hatte den Zweck, die Richtigkeit der Ergebnisse in Serie I festzustellen, insbesondere das Verhalten des Körpergewichtes, das bei Serie II eine so bedeutende Steigerung erfahren hatte, hier genauer zu beobachten.

Der Harn wurde untersucht auf Harnstoff nach Liebig; der Gesammtstickstoff nach der Methode von Kjeldahl mit Berücksichtigung der von Pflüger[1]) angegebenen Modificationen.

5 cbcm. Harn wurden unter Zusatz von 40 cbcm. conc. Schwefelsäure und eines Tropfens metallischen Quecksilbers so lange in einem mit langem Halse versehenen Kölbchen unter heisser Flamme gekocht, bis dass das anfänglich schwarzbraune Gemisch klar geworden war. In einem Destillationsgefäss auf 700—800 cbcm. mit Wasser verdünnt und unter Zusatz von 180—200 cbcm. Natronlauge von 1,3 spec. Gewicht, wurden ca. 250 cbcm. überdestillirt in eine 50 cbcm. einer $^1/_{10}$-Normal-Schwefelsäure enthaltende Erlenmeyer'sche Flasche. In dem Destillate wurde das Ammoniak durch Rücktitriren mit $^1/_{10}$-Normal-Natronlauge bestimmt. Als Indikator wurde Phenolphtalein benutzt. Es entspricht dabei 1 cbcm. $^1/_{10}$-Normal-Schwefelsäure 0,017 gr. Ammoniak.

Das Körpergewicht wurde alle 2—3 Tage Morgens früh vor der bezw. ersten Nahrungsaufnahme auf einer Decimalwaage gewonnen.

Es folgen die Ergebnisse der Harnanalysen. (Siehe Tabelle auf Seite 4.)

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. 36, S. 102.

Tage.	Datum.	24 stündige Harnmenge.	Spec. Gew.	Gesammt-N.	Gesammt-$\overset{+}{\text{Ur}}$.	N in $\overset{+}{\text{Ur}}$.	N %.	$\overset{+}{\text{Ur}}$ %.	Körpergewicht des Thieres.	
					Serie I.					
1	21. Juni.	445 cbcm.	1055	21,804	39,744	18,573	$4,899_8$	8,931	12,600 kgr.	**Gesammt-N p. die: 19,7894.**
2	22. »	325 »	1060	15,014	27,379	12,794	$4,619_8$	8,424	—	[197,894 : 10].
3	23. »	465 »	1059	22,784	41,518	19,401	$4,899_8$	8,928	12,550 »	
4	24. »	320 »	1058	16,169	29,904	13,974	$4,899_8$	9,061	12,400 »	
5	25. »	400 »	1052	17,023	32,436	15,157	4,256	8,109	—	**Gesammt-$\overset{+}{\text{Ur}}$ p. die: 36,624.**
6	26. »	460 »	1056	22,539	41,407	19,349	$4,899_8$	9,002	—	[366,238 : 10].
7	27. »	425 »	1050	18,444	33,797	15,793	$4,339_8$	7,952	12,320 »	
8	28. »	580 »	1050	29,231	54,726	25,573	$5,039_8$	9,435	—	**Darin N: 17,1141.**
9	29. »	470 »	1052	14,797	27,379	12,794	3,148	5,825	—	
10	30. »	410 »	1051	20,089	37,948	17,733	$4,899_8$	9,253	12,550 »	
				197,894	366,238	171,141				
					Serie II.					
1	7. Juli.	330 cbcm.	1056	16,169	29,904	13,974	$4,899_8$	9,061	12,900 kgr.	**Gesammt-N p. die: 21,089.**
2	8. »	395 »	1054	18,248	33,645	15,722	$4,619_8$	8,517	—	[231,9809 : 11].
3	9. »	450 »	1054	22,049	41,156	19,232	$4,899_8$	9,145	12,900 »	
4	10. »	450 »	1052	20,157	38,462	17,973	$4,479_8$	8,547	—	
5	11. »	370 »	1061	19,683	37,529	17,537	$5,319_8$	10,143	—	**Gesammt-$\overset{+}{\text{Ur}}$ p. die: 38,919.**
6	12. »	430 »	1062	24,079	44,944	21,002	$5,599_8$	10,452	12,920 »	[428,111 : 11].
7	13. »	550 »	1058	$27,718_9$	51,431	24,033	$5,039_8$	9,351	—	
8	14. »	370 »	1060	19,165	29,386	13,732	$5,179_8$	7,942	—	
9	15. »	450 »	1056	22,049	41,458	19,373	$4,899_8$	9,213	12,880 »	
10	16. »	475 »	1056	20,614	38,823	18,235	$4,339_8$	8,174	—	**Darin N: 18,195.**
11	17. »	450 »	1057	22,049	41,373	19,333	$4,899_8$	9,193	12,850 »	
				$231,980_9$	428,111	200,146				
					Serie III.					
1	20. Juli.	500 cbcm.	1058	19,128	29,239	13,663	$3,825_8$	5,848	12,670 kgr.	**Gesammt-N p. die: 17,6036.**
2	21. »	340 »	1052	13,336	21,554	10,072	$3,919_8$	6,339	12,650 »	[176,036 : 10].
3	22. »	335 »	1053	15 007	28,948	13,527	$4,479_8$	8,641	—	
4	23. »	465 »	1055	19,529	37,822	17,674	$4,199_8$	8,133	12,700 »	
5	24. »	390 »	1057	18,017	33,622	15,711	$4,619_8$	8,621	—	
6	25. »	425 »	1054	18,444	33,861	15,823	$4,339_8$	7,952	12,720 »	**Gesammt-$\overset{+}{\text{Ur}}$ p. die: 31,604.**
7	26. »	450 »	1051	12,599	21.141	9,879	$2,799_9$	4,698	—	[316,042 : 10].
8	27. »	355 »	1060	18,377	33,812	15,800	5,178	9,524	—	
9	28. »	465 »	1059	22,784	41.585	19,432	$4,899_8$	8,928	12,680 »	**Darin N: 14,7683.**
10	29. «	400 »	1059	18,815	34,458	16,102	4,704	8,614	12,650 »	
				176,036	316,042	147,683				

Welche Schlüsse können wir aus diesen Resultaten ziehen?

Betrachten wir zunächst:

1. Das Verhalten der Harnmenge und des specifischen Gewichtes.

Der Hund hat ausgeschieden Harn:

in Serie I in 10 Tagen 4320 cbcm., d. h. p. die 432,0 cbcm.
in Serie II in 11 Tagen 4720 cbcm., d. h. p. die 429,0 cbcm.
in Serie III in 10 Tagen 4125 cbcm., d. h. p. die 412 cbcm.

Das durchschnittliche specifische Gewicht betrug:

in Serie I . . . 1054,
in Serie II . . . 1057,
in Serie III . . . 1056.

Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, dass die Quantität des täglich durchschnittlich ausgeschiedenen Harns während der Versuche abgenommen hat, zwischen der Reihe I und II sehr wenig, II und III viel stärker, dass die Concentration des Harns also nicht den gleichen Gang zeigt wie die Harnmenge, sondern in Reihe II am höchsten ist, in Reihe I am niedrigsten. Die Abnahme des mittleren täglichen Harnvolumens kann hier eine Folge der sich erhöhenden Lufttemperatur sein, aber das niedrigere spec. Gewicht in III gegenüber von II zeigt hier eine höhere Concentration gegenüber I und II, wenn auch der Unterschied gegenüber III gering ist.

2. In der Gesammtstickstoff- und Harnstoffausscheidung macht sich ein auffallender Parallelismus bemerkbar; und damit auch des in Harnstoff enthaltenen Stickstoffs, durch Multiplikation mit dem Faktor 46,73 erhalten, ein Parallelismus, den Tab. II veranschaulichen möge, in der die Abscisse den Tag, die Ordinate das Resultat der täglichen Harnanalysen, in gr. ausgedrückt, bedeuten.

(Siehe Tafel II.)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

15

10

5

— Stickstoff in Harnstoff p. die (I).

— Stickstoff in Harnstoff, p. die (III)

Abscisse = Tag.

Ordinate = Resultat der Harnanalyse dieses Tages, und zwar für

Serie I ————

Serie II – – – – –

Serie III ....

...schrift f. physiol. Chemie Bd. XVII. Tafel II.

...an, "Ueber den Einfluss täglich einmaliger oder fractionirter Nahrungsaufnahme auf den Stoffwechsel des Hundes."

Verlag von Karl J. Trübner in Strassburg.

Lith. Anst. v Werner & Winter, Frankfurt a/M

Das starke Steigen und Fallen der Curven kann uns keineswegs dabei wundern, wenn berücksichtigt wird, dass das Thier nicht katheterisirt wurde, sondern freiwillig den Harn entleerte und die Versuchstage, wie oben erwähnt, zu bestimmten Stunden begannen.

3. Die von Pflüger, Bohland und Bleibtreu[1]), ferner von E. Schulze[2]) bewiesene Thatsache, dass die Stickstoffausscheidung im Harn bei weitem nicht in dem Masse, wie man früher annahm, auf Harnstoff zurückzuführen sei, sondern dass sich auch die übrigen stickstoffhaltigen Substanzen in nicht unerheblichem Grade betheiligen, findet sich auch hier bestätigt. Nach obigen Forschern beträgt der als Harnstoff ausgeschiedene Stickstoff beim Menschen bei vorwiegender Fleischkost im Mittel 88—90%. E. Schulze[3]) hat ein ähnliches Verhalten am Menschen konstatirt. Bei Fleischkost waren 90,5% des Gesammtstickstoffes in Harnstoff enthalten. Bleibtreu[4]) fand den Procent-Gehalt des nicht in Harnstoff enthaltenen Stickstoffs, wenn der Gesammtstickstoff gleich 100 gesetzt ist, beim Hunde unter Fleischkost schwankend zwischen 4,07 und 10,96%, bei gemischter Kost steigend bis auf 14,5%. Unsere Resultate, mag die Nahrung auf einmal gereicht worden sein, oder in verschiedenen gleichen Portionen, zeigen eine höhere Differenz an. Eine Zusammenstellung der Zahlen möge die Sache zur Veranschaulichung bringen:

Serie.	Gesammt-N im Mittel p. die in gr.	Gesammt-$\overset{+}{\text{Ur}}$ im Mittel p. die in gr.	N in $\overset{+}{\text{Ur}}$ im Mittel p. die in gr.	Procent-Gehalt des in $\overset{+}{\text{Ur}}$ enthaltenen N, wenn Gesammt-N = 100 gesetzt ist.	Procent-Gehalt des nicht in $\overset{+}{\text{Ur}}$ enthaltenen N.
I.	19,789	36,624	17,114	86,49 %	13,51 %
II.	21,089	38,919	18,195	86,28 %	13,72 %
III.	17,604	31,604	14,768	89,58 %	10,42 %
Mittel I—III.				87,45 %	12,55 %

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. 38, S. 575; 43, S. 30; 44, S. 10; 44, S. 312.
[2]) Ibid., Bd. 45, S. 401.
[3]) Ibid., Bd. 45, S. 406.
[4]) Ibid., Bd. 44, S. 534.

Somit scheint mir die von Bleibtreu für den Hund angegebene Zahl des nicht in Harnstoff enthaltenen Stickstoffs zu niedrig gegriffen zu sein, wobei man auch nicht ausser Acht lassen darf, dass seine Versuche nur sehr kurze Zeit durchgeführt waren, dass nur je eine Analyse vorlag und dass, wie er selbst zugibt, die Resultate zufällig in dieser Richtung ausgefallen sein könnten, da schon für gewöhnlich die Menge des Stickstoffs und Harnstoffs gewissen und oft nicht unbedeutenden Schwankungen unterworfen ist, was sich auch in Serie III auszusprechen scheint, in der das Resultat mit dem Bleibtreu's ziemlich übereinstimmt.

4. Betrachten wir nun das Verhältniss bei einmaliger und fraktionirter Nahrungsaufnahme, — und damit kommen wir auf unser eigentliches Thema.

War die Gesammtstickstoffausscheidung im Mittel p. die

in Serie I . . 19,789,

so war sie

in Serie II . . 21,089

und

in Serie III . . 17,604,

macht ein Plus von 1,3 bis 3,485 gr. p. die für die Zeit, in der der Hund die Nahrung in 4 Portionen erhielt. Ein Aehnliches gilt für die Harnstoffausscheidung. Sie betrug im Mittel p. die

in Serie I . . 36,624,
in Serie II . . 38,919,
in Serie III . . 31,604,

macht ein Plus von 2,295 bis 7,315 gr. p. die. Dasselbe Verhalten, sowohl für die Stickstoff-, wie für die Harnstoffausscheidung, zeigt sich in der procentigen Ausscheidung dieser Stoffe, wie Tab. I ohne Weiteres ergibt.

Wie erklären wir den Unterschied?

Man könnte geneigt sein, den erhöhten Stoffumsatz zurückzuführen auf den Einfluss der im Verhältniss zu Serie I und III vermehrten Thätigkeit des Darms. Nach der Aufnahme von Nahrungsstoffen tritt bekanntlich eine vermehrte Zersetzung im Körper ein, was sich einerseits in der reich-

licheren Harnstoffausscheidung, andererseits der gesteigerten Production von Kohlensäure und gesteigerten Aufnahme von Sauerstoff ausdrückt. Mering und Zuntz[1]) glaubten diese Steigerung des Stoffwechsels auf die Arbeit des Darms zurückführen zu können, gestützt auf ihre Versuche, indem nach Einspritzung von Zuckerlösungen, von milchsaurem und äpfelsaurem Natron und von Glycerin in die Venen, nicht mehr Sauerstoff wie beim Hunger aufgenommen wird, wohl aber nach Einbringung derselben in den Darm. Voit[2]) hat bereits die Beweiskraft dieser Versuche geleugnet und selbst, auf seine Versuche gestützt, den Satz ausgesprochen, dass der bedeutende Mehrverbrauch nicht durch die Arbeit des Darmes hervorgerufen sein könne. Der Eiweissumsatz nach vorausgehender reichlicher Fleischfütterung am ersten Hungertage bei leerem Darme ist ein ganz gewaltiger. Die Darmarbeit steigert dabei den Zerfall nicht, denn wenn man den Darm mit grossen Quantitäten von Fett oder Kohlehydraten ohne Eiweiss überlastet, so dass derselbe in hohem Masse thätig sein muss, so wird doch die Eiweisszersetzung nicht grösser als bei völligem Hunger.

Wie also sich die Steigerung in der Ausscheidung der stickstoffhaltigen Stoffe in unseren Versuchen erklären, da doch die Bedingungen in der ganzen Versuchszeit absolut dieselben waren, bis eben auf die verschiedene Vertheilung der Nahrung in Serie I und III, gegenüber Serie II, sodass alle jene Momente, die für eine vermehrte Zersetzung in Anspruch genommen werden könnten, wie Muskelarbeit, Veränderungen der umgebenden Temperatur u. s. w., mögen sie zu Recht bestehen oder nicht, auch pathologische Vorgänge, z. B. Durchfall, während der ganzen Versuchsreihe nicht mitspielten.

Welches sind also die Ursachen? Um die im Fleisch enthaltenen Nahrungsstoffe in lösliche Modificationen über-

---

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. 15, S. 634.

[2]) Zeitschrift f. Biolog., 1878, Bd. XIV, S. 145, 1869, Bd. V, S. 354 und 435.

zuführen, braucht das Thier nunmehr freilich mehr Zeit, das Endresultat dieses Prozesses ist aber auch ein ganz verändertes gegenüber Serie I und III. Kaum schickt sich der Magen an, die letzten verdauten Elemente der Nahrung, die Dank ihrer geringeren Menge einer bedeutend stärkeren Salzsäure- und Pepsinwirkung unterlagen, dem Darm zu übergeben, so erhält der Magen am Ende der vierten Stunde eine neue Ladung, die demselben Prozesse unterliegt. Dass die Resorption unter diesen Verhältnissen eine viel günstigere ist, liegt auf der Hand. Mögen wir uns die Aufnahme der Peptone durch das Darmepithel vorstellen wie wir wollen, das Endresultat wird immer das sein: Das Eiweiss wird in grösserer Menge resorbirt. Die Stickstoffund Harnstoffausscheidung wird eine grössere sein, ganz abgesehen vom Ansatz am Körper, worauf wir noch später zurückkommen werden.

Die Eiweisszersetzung im thierischen Organismus im Allgemeinen ist abhängig von zwei Faktoren:

1. von der Grösse der Eiweisszufuhr,
2. von dem durch die voraufgegangene Fütterung erzeugten Körperzustand.

Auf unseren Fall angewandt, verhält sich das Thier in Serie II in einem Zustand von gleichsam vermehrter Eiweissaufnahme. Die Folge ist eine vermehrte Stickstoffausscheidung. Der Körperzustand, durch die voraufgegangene Fütterung in Serie I bedingt, ist ein solcher, dass das Thier mit der einmal täglich gegebenen Menge Fleisches sein Körpergewicht wenig oder gar nicht ändert. Setzt man nun die Fütterung mit der bestimmten Menge Fleisches — 750 gr. auf viermal vertheilt — in Serie II fort, so wächst, nach der voraufgegangenen gleichsam spärlicheren Zufuhr, der Eiweisszerfall innerhalb 7 Tage — 30 Juni bis 7 Juli — von

im Mittel 19,789 gr. N p. die
auf im Mittel 21,089 gr. N p. die.

Nach voraufgehender gleichsam grösserer Zufuhr in Serie II, nimmt dagegen in Serie III, wo das alte Verhältniss

wiederhergestellt ist, der Zerfall wieder ab, sodass nunmehr die Stickstoffausscheidung von

im Mittel 21,089 gr. p. die,
sinkt auf 17,603 gr. p. die.

Dieses Plus oder Minus an Stickstoff macht sich nicht nur im Harn bemerkbar, sondern auch

5. im Verhalten des Körpergewichtes, und damit kommen wir auf den letzten Punkt bei Betrachtung der Tabelle I.

Das Körpergewicht des Thieres hat während der ersten Versuchsreihe nur geschwankt zwischen 12,600 und 12,320 kg. das Mittel von 5 Wägungen ist 12,484 kg. In Serie II ergab sich als mittleres Körpergewicht 12,890 kg., in Serie III ein solches von 12,678 kg. In den Tagen vom 30. Juni bis 7. Juli ist das Gewicht gestiegen von 12,550 auf 12.900 kg. Diese Gewichtszunahme ist höher als irgend eine Schwankung während einer Versuchsreihe. In Reihe II blieb auch das Gewicht höher als irgend ein gefundenes Gewicht in Reihe I. In Serie III blieb das Gewicht niederer als in Reihe II, aber höher als die einzelnen Wägungen in Serie I ergeben haben.

Als Ansatz am Körper zu betrachten sind wir, nach Voit's Vorgang, nur gewohnt ein Minus in der Stickstoffausscheidung gegenüber der Einnahme. Die tägliche Nahrung einer solchen Untersuchung zu unterziehen, unterliess ich aus Mangel an Zeit; ebenso unterblieb eine Analyse der Faeces auf ihren Stickstoffgehalt, beides wichtige Faktoren bei der Beantwortung der Frage, die angegeben werden müssten, wenn die Arbeit auf wissenschaftliche Vollständigkeit Anspruch erheben wollte. — Die Analyse des Koths betreffend, musste man sich freilich bewusst sein, dass die durch denselben ausgeschiedene Stickstoffmenge, in der der nicht resorbirte Stickstoff der in den Darm ergossenen Drüsensekrete, das abgestossene Darmepithel, mit der Nahrung verschluckte Haare, die stickstoffhaltigen Fäulnissprodukte, die doch auch eine dabei nicht zu verachtende, freilich bis jetzt von den Autoren wenig berücksichtigte Rolle spielen, einbegriffen wäre, nur einen unsicheren Rückschluss auf die Eiweissverwerthung erlaubt. — Den Stickstoffgehalt der eingenommenen Nahrung

zu bestimmen hätte freilich einen wesentlich günstigeren Erfolg gehabt, um aus demselben Rückschlüsse auf die Ausnützung der Nahrung zu ziehen. Somit können wir nicht davon reden, dass das Thier in einem wirklichen Stickstoffgleichgewicht sich befand, jedenfalls aber kommt es mit der dargereichten Nahrung vollkommen aus, da das Körpergewicht in der Zeit vor dem Beginn der Untersuchungen nie wesentlich verändert gefunden wurde, wo es täglich auf einmal 750 gr. Fleisch erhielt.

Nehmen wir dieses zu 3,4 % Stickstoff an, so hat das Thier erhalten im ganzen in

Serie I (10 Tage) 255 gr. Stickstoff,
Serie II (11 Tage) 280,5 gr. Stickstoff,
Serie III (10 Tage) 255 gr. Stickstoff.

Von diesem eingeführten Stickstoff sind im Harn nicht ausgeschieden, da die Gesammtstickstoffausscheidung in

Serie I (10 Tage) 197,894 gr.
Serie II (11 Tage) 231,980 gr.
Serie III (10 Tage) 176,036 gr.

betrug, in

Serie I (10 Tage) 57,106 gr. Stickstoff,
Serie II (11 Tage) 48,519 gr. »
Serie III (10 Tage) 78,964 gr. »

Diese Quantitäten Stickstoff sind so gross, dass sie im ausgeschiedenen Kothe nicht enthalten sein konnten; entweder ist also das täglich eingeführte Stickstoffquantum in Wirklichkeit nicht so hoch gewesen, oder es haben nicht geringe Verluste an Stickstoff stattgefunden, sei es bei der Analyse selbst oder durch ein konstantes Minus bei der Anwendung des Indikators.

Wie dem auch sei: ziehen wir in Betracht, dass das Körpergewicht in der 7 tägigen Uebergangsperiode von Reihe I auf II, von 12,550 kgr. gestiegen ist auf 12,900 kgr. und dass diese Gewichtszunahme eintrat nach Beginn der fraktionirten Nahrungsaufnahme, so ist anzunehmen, dass dieselbe herrührt von einem Theile des in dieser Zeit aufgenommenen Fleisches.

Wie erklären wir uns nun das Steigen des Körpergewichtes, während der Uebergangsperiode von Serie I zu

Serie II, und das Sinken des Körpergewichtes während der Uebergangsperiode von Serie II zu Serie III?

Zur Erklärung dieses immerhin merkwürdigen Phaenomens müssen wir scheiden einen verschiedenen Umsatz:

1. am ersten Tage der Zufuhr einer bestimmten Eiweissmenge, und
2. an den folgenden Tagen der Fütterungsreihe.

Ist im ersteren Falle vorher längere Zeit weniger Eiweiss gegeben worden, so erscheint am ersten Tage der reichlicheren Fütterung nicht aller Stickstoff der zugeführten Eiweissmenge in den Excreten; ist aber ein andermal vorher viel Eiweiss verzehrt worden, so findet sich bei geringerer Zufuhr mehr Stickstoff im Harn und Koth als aufgenommen wurde. Dieses Minus bezw. Plus beim Uebergang zu einer grösseren oder geringeren Gabe von Eiweiss kann nicht auf einer Retention oder Ausscheidung stickstoffreicherer Stoffe beruhen, sondern im Wesentlichen nur auf einer Ablagerung bezw. einem Verlust von Eiweiss am Körper.

Setzt man im zweiten Falle die Fütterung mit einer bestimmten Eiweissmenge fort, so wächst nach vorausgegangener spärlicher Zufuhr der Eiweisszerfall von Tag zu Tag, um schliesslich konstant zu bleiben, d. h. das Körpergewicht unterliegt keinen oder doch nur geringen Schwankungen. Nach vorhergehender grösserer Zufuhr nimmt dagegen der Zerfall immer mehr ab, bis er zuletzt wiederum konstant bleibt: auch hier akkomodirt sich der Körper gleichsam der neuen Nahrungsmenge an und erhält sich mehr oder weniger auf dem gleichen Bestande.

Es liegt nichts Zwingendes vor, diese Erscheinungen mit Voit's Lehre vom circulirenden Eiweiss zu erklären, einem Begriffe, gegen den schon vor längerer Zeit Hoppe-Seyler[1]) sich sehr entschieden ausgesprochen hat, da er mit den Ergebnissen mannigfaltiger physiologischer Untersuchungen nicht im Einklange stehe und daher zu verwerfen sei. Vielmehr reicht es hin, den Abfall des Körpergewichtes mit einem Ver-

[1]) Pflüger's Archiv, Bd. 7, S. 399.

lust von Eiweiss am Körper zu erklären, der eintritt bei geringerer Zufuhr nach voraufgegangener reichlicherer Fütterung und zwar vorzüglich an den ersten Tagen.

Fassen wir die Resultate unserer Betrachtung noch einmal kurz zusammen, so können wir sagen: Als Wirkung der Zertheilung der täglichen Nahrung reinen Fleisches in vier Portionen treten hervor:

1. Zunahme des Körpergewichtes
2. Zunahme der Stickstoffausscheidung und
3. Zunahme des im Harnstoff ausgeschiedenen Stickstoffs.

Durch diese Fraktionirung der Fütterung wird die Verdauung und Resorption auf einen grösseren Zeitraum ausgedehnt, aber es ist auch unzweifelhaft, dass die durch Verdauung gelösten Eiweisstheilchen bis zur Resorption in das Blut kürzere Zeit im Darmkanale verweilen, als wenn die ganze tägliche Ration auf einmal gegeben wird. Je kürzer der Zeitraum ist, während welchem das durch Verdauung gelöste Eiweiss der weiteren Einwirkung von Pankreasflüssigkeit und Fäulniss im Darmkanale ausgesetzt ist, um so weniger wird von demselben der Spaltung in Ammoniak, Kohlensäure, Leucin, Tyrosin u. s. w. unterliegen. Ist die dargelegte Schlussfolgerung richtig, so wird bei gleicher täglicher Fleischration, wenn sie in vier auf den Tag vertheilten Fraktionen gereicht wird, ein grösserer Theil des Eiweiss als solches zur Resorption gelangen, als wenn das ganze auf einmal gegeben wird.

Welcher Unterschied ergibt sich hieraus für die Ernährung?

Zu den Prozessen der Bildung, des Wachsthums und der Vermehrung der Zellen und der eiweissreichen Organe, die aus Zellen hervorgehen, wie die Muskeln, ist die Anwesenheit von Eiweissstoffen erforderlich. Das Eiweiss, welches im Darme bei der Verdauung in Spaltungsprodukte zerlegt, oder durch Fäulniss verwandelt ist, kann im thierischen Körper nicht wieder regenerirt werden und ist in seinem Nährwerth nicht höher zu stellen als Leim. Die Quantität des Eiweiss

zu bestimmen, welche der Spaltung und Fäulniss im Darmkanale unterliegt, ist man noch nicht imstande; ebensowenig besitzt man eine Einsicht in den Vorgang der Resorption, um feststellen zu können, wie viel Eiweiss als solches in das Blut aufgenommen ist. Das Leucin, Tyrosin und andere Amidosäuren, welche bei der Spaltung der Eiweissstoffe entstehen, geben beim Durchgang durch den Organismus ihrem Stickstoffgehalt entsprechende Harnstoffquantitäten ab, wie sie auch entstehen, wenn das Eiweiss als solches resorbirt ist und der Zerlegung in den Organen unterliegt. Wir haben im Harne am Indoxylgehalt einen allerdings noch näher auf die Breite seiner Anwendbarkeit zu prüfenden Maassstab bezüglich der Zersetzung von Eiweissstoffen im Darme durch Fäulniss, bezüglich der Pankreasverdauung fehlt bis jetzt ein solches Erkennungsmittel.

Ohne Zweifel dürfen wir aber schliessen, dass die Ausnützung der Eiweissstoffe im Organismus nur dann eine möglichst vollständige ist, wenn nicht allein 1. möglichst wenig vom Eiweiss in den Darm eingeführt, in den Fäces zur Ausscheidung, also überhaupt gar nicht in den Organismus gelangt, sondern auch 2. möglichst wenig von diesem Eiweiss durch Pankreaseinwirkung und Fäulniss der Spaltung unterliegt, also in summa ein möglichst grosser Theil des in den Magen eingeführten Eiweiss ohne Spaltung zu erfahren, als Eiweiss (Acidalbumin, Propepton, Pepton) zur Resorption gelangt.

Ich behalte mir vor, auf diesen interessanten Punkt in einer späteren Arbeit noch näher einzugehen.

Die oben geschilderten Versuchsreihen lassen erkennen, dass dieselbe Quantität Eiweiss, welche in mehreren einzelnen Portionen täglich gegeben wird, Erhöhung des Körpergewichts und der Stickstoffausscheidung im Harne bewirkt, bei der Verabreichung in einer Portion täglich geringeres Körpergewicht und niedrigere Werthe der Stickstoffausscheidung im Harn zur Folge hat.

Soweit die Frage beim Hunde und bei ausschliesslicher Fleischnahrung.

Um die Resultate auch auf den Menschen zu übertragen, müssen wir freilich berücksichtigen, welche allgemeine Anforderungen an die Nahrung der Mensch stellt. Voit theilt ein:

1. es muss jeder Nahrungsstoff in genügender Menge vorhanden sein,
2. die einzelnen Nahrungsstoffe müssen in richtigem Verhältnisse gereicht werden,
3. die Nahrungsmittel müssen aus dem Darmkanal in die Säfte aufgenommen werden können und
4. es müssen ausser den Nahrungsmitteln auch Genussmittel gereicht werden.

Für den Hund hatte schon Voit nachgewiesen, dass die Zufuhr von reinem Fleisch, wenn die Menge auch so gross ist, den Organismus auf den anderswie erzeugten guten Ernährungszustand zu erhalten, doch einen ebenso guten Ernährungszustand nicht herzustellen vermag, während relativ wenig Eiweiss mit viel Fett und Kohlehydraten in der Nahrung selbst den herabgekommensten Organismus wieder eiweiss- und fettreich machen kann. Beim Menschen kommen freilich noch anderlei wichtige Momente in Betracht, vor allem die Ausnützung und das Volumen der Nahrung. Es steht soviel fest, dass im Allgemeinen die vegetabilische Nahrung im menschlichen Darme schlechter ausgenützt wird und an Volumen grösser ist als die animalische. Doch auch unter Berücksichtigung dieser Momente kann man nicht mit Bestimmtheit aussprechen, dass eine Nahrung desto besser ist, je reicher sie an Eiweiss ist. Es ist das Verdienst Kumagavas[1]), dies neuerdings an der Hand von Zahlen wieder hervorgeboben zu haben.

Man sieht, welche Schwierigkeiten sich einem entgegenstellen, wollte man die Frage der fraktionirten Nahrungsauf-

[1]) Virchow's Archiv, Bd. 116, S. 370.

nahme und ihrer Consequenzen auf den Menschen übertragen, zumal doch auch hier individuelle Verschiedenheiten, Verdauungs- und Resorptionsfähigkeit des Darmes, Energie des Stoffwechsels u. s. w. als sehr schwankende Faktoren mitspielen. Immerhin dürfte es eine dankbare Aufgabe sein, dies Verhalten am Menschen bei seiner gewöhnlichen gemischten Nahrung zu untersuchen. Offenbar würden die Resultate ganz auffallende sein und sich aus ihnen Schlüsse ziehen lassen, die für den Hygieniker von weittragender Bedeutung sein dürften.

Von Alters her schreibt derselbe dem Menschen vor, mehrmals des Tages seine Nahrung aufnehmen, ohne dabei eine genaue gleichmässige Eintheilung für dieselbe zu verlangen. Vielmehr findet diese Frage in dem allgemeinen Usus ihre Erledigung, indem in der Regel dreimal pro Tag gegessen wird und darunter eine sog. Hauptmahlzeit. Ebenso fehlerhaft es ist, zu häufig zu essen, ebenso unrichtig ist es, das ganze nöthige Nahrungsquantum in einem Male einzuführen. Im ersteren Falle werden die Verdauungsorgane in fortwährende Thätigkeit versetzt und dadurch die Thätigkeit anderer Organe gestört und beeinträchtigt, im anderen Falle bürden wir den Verdauungsorganen zu viel Arbeit auf einmal auf; sie können das Nahrungsquantum nicht bewältigen, eine bedeutend schlechtere Ausnützung ist die ganz natürliche Folge. Vielmehr ist die Nahrungsaufnahme so einzurichten, dass dem Darmkanal gleichmässige Pausen der Ruhe gegönnt werden, in denen andere Organe vollauf thätig sein können, dass ferner die Zersetzungen im Körper gleichmässig vertheilt werden, dass der nach der Nahrungsaufnahme steigende Stoffumsatz, den neuerdings Gley und Richet[1]) hinsichtlich der Stickstoff- und Harnstoffausscheidung 5—7 Stunden lang nach dem Essen sich geltend machen sahen, gleichmässig seine lebendige Kraft erzeuge.

So erscheint es unter keinen Umständen gerechtfertigt, als eben durch sociale Verhältnisse bedingt, eine einzige Haupt-

---

[1]) Compt. rend. hebd. des séances de la Soc. de Biolog., 1887, Pg. 377.

mahlzeit im Tage abzuhalten, für deren Aufnahme es nicht einmal feststeht, ob es besser ist, sie mitten in das Tagewerk oder an den Schluss desselben zu verlegen. Allgemeine Regeln für die Zeit der Nahrungsaufnahme und die aufzunehmenden Mengen aufzustellen, ist unthunlich, denn je nach den inneren und äusseren Verhältnissen würden sie verschiedene sein müssen, wir meinen die Altersentwickelung, das Geschlecht und die Constitution, die Lebensweise, das Klima und die Jahreszeit. Es ist hier nicht der Ort, die Einflüsse, den die durch jene Verhältnisse bedingten Zustände auf die Zeit und Wahl der Nahrung äussern, zu präcisiren, hier nur in aller Kürze die Untersuchungen Voit's am erwachsenen Menschen. Voit[1]) untersuchte die Kost dreier gut gezahlter Arbeiter während 10 Tagen und bestimmte, wie viel von der Gesammtnahrung auf die Hauptmahlzeit fiel. Er fand im Mittel von 30 Bestimmungen:

Gehalt der Nahrung pro Tag in gr. an:			Gehalt der Hauptmahlzeit in gr. an:		
Eiweiss.	Fett.	C-hydrat	Eiweiss.	Fett.	C-hydrat.
479	54	479	74	33	160
		oder in Procenten:	50 %	61 %	32 %

J. Forster[2]) fand ähnliche Zahlen, sowohl an Arbeitern, als auch besser situirten Leuten, wie Voit: Eiweiss 45 %, Fett 57 %, C-hydrat. 39 %. In beiden Fällen also fällt die Hälfte des für den Tag nöthigen Eiweisses, ²/₃ des Fettes und ¹/₃ der Kohlehydrate auf die Hauptmahlzeit. Wie irrationell dies doch eingerichtet! Für den Rest des Tages muss der Mensch mit dem Rest vorlieb nehmen, nicht gerade, dass es ihm eine Pein ist, so lange sozusagen zu fasten, denn auch hier hilft wiederum die Gewohnheit heraus, wenn der Arbeiter, nachdem er seit Abends zuvor nichts mehr genossen hat als Milchkaffee und Brod den ganzen Morgen gearbeitet hat, dies relativ gut verträgt. Und doch dürfen wir beim Anblicke solcher Verhältnisse Voit's Worte unterschreiben: «Eine

[1]) Zeitschr. f. Biolog., 1876, Bd. XII, S. 46.
[2]) Ibid., 1873, Bd. IX, S. 396.

falsche Vertheilung der Mahlzeiten und der Nahrungsstoffe rächt sich sicherlich an der Gesundheit des Menschen.»

Strassburg, Dezember 1892.

Zum Schlusse dieser Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Hoppe-Seyler für die Anregung der Arbeit, sowie für die vielfache Unterstützung, die er mir während der Anfertigung derselben hat zu Theil werden lassen, meinen innigsten Dank auszusprechen.

Zum Nachweis der Harnsäure in den Organen.

Von

Dr. Carl Wulff.

(Aus der chemischen Abtheilung des physiologischen Instituts zu Berlin.)
(Der Redaction zugegangen am 1. Februar 1893.)

Nachdem Kossel gezeigt, dass die Nucleïnbasen aus dem Nucleïn entstehen, lag der Gedanke sehr nahe, dass auch die Harnsäure auf gleiche Weise gebildet werde. Schon vor längerer Zeit wurden von Stadthagen[1]) Versuche im hiesigen Laboratorium angestellt, um eine evtl. Bildung von Harnsäure aus dem Nucleïn experimentell zu beweisen, doch scheiterten die Versuche daran, dass es nicht möglich schien, Harnsäure in geringen Mengen neben dem Xanthin nachzuweisen. Horbaczewski, der sich weiter für diese Frage interessirt hat, glaubt nun durch Digestion von Milzpulpa mit Blut wirklich Harnsäure erhalten und so den experimentellen Beweis der Bildung der Harnsäure aus dem Nucleïn erbracht zu haben[2]).

Allein so sorgfältig und eingehend auch die Versuche von Horbaczewski ausgeführt zu sein scheinen; man kann nicht umhin, einige Einwendungen gegen das erhaltene Resultat geltend zu machen, Einwendungen, die in Anbetracht der weitgehenden Schlussfolgerungen, die sich daraus ergeben, nicht verschwiegen werden dürfen.

Ist das von Horbaczewski isolirte und als Harnsäure angesprochene Product wirklich wesentlich Harnsäure gewesen?

---

[1]) Virchow's Archiv, Bd. 109, S. 390.

[2]) Monatshefte für Chemie, Bd. 12, S. 221—275.

Das ist die Frage, die sich aufdrängt, um so mehr, als in der Abhandlung Horbaczewski's nicht gesagt wird, ob und wie die Identität der Harnsäure festgestellt wurde. Die Art der Isolirung des als Harnsäure bezeichneten Productes macht es sehr wahrscheinlich, dass dasselbe zum grösseren oder kleineren Theile aus Xanthin bestand.

Auch Kossel gab vor Kurzem in der Sitzung der physiologischen Gesellschaft zu Berlin am 14. Oktober 1892 seinen Zweifeln in dieser Hinsicht Ausdruck.

Im Folgenden werde ich versuchen, vom chemischen Standpunkte aus den Wahrscheinlichkeitsbeweis zu erbringen, dass bei Anwendung von Horbaczewski's Bestimmungsmethode aus den Geweben eine xanthinhaltige Harnsäure erhalten wird. Im Anschlusse hieran werde ich mich über eine von mir ausgearbeitete Methode verbreiten, die eine Trennung der Harnsäure und des Xanthins möglich macht.

Gehen wir zunächst mit besonderer Berücksichtigung des Xanthins die ganze Versuchsanordnung Horbaczewski's durch. Eine Mischung von frischem defibrinirtem Kälberblut wurde in einem Brutofen bei einer Temperatur von 37—40° 5—8 Stunden digerirt und während dieser Zeit ein langsamer Lufstrom darübergeleitet. Hierauf wurde die Mischung in die vier- bis fünffache Menge einer siedend heissen Kochsalzlösung gegossen, die Flüssigkeit mit Essigsäure angesäuert, aufgekocht und heiss filtrirt. Der Niederschlag wurde noch zweimal mit Wasser aufgekocht, das gemischte Filtrat schliesslich auf 200—300 cbcm. eingedampft und von dem sich gewöhnlich in geringer Menge abscheidenden Niederschlag abfiltrirt. In dieser Lösung, die Horbaczewski weiter zur Isolirung der Harnsäure benutzte, ist nun ohne Zweifel das Xanthin enthalten. In siedendem Wasser löst sich das Xanthin nach den vorhandenen Angaben im Verhältniss von ca. 1 : 1500; doch kann man wohl als sicher annehmen, dass ein unreines Xanthin, um das es sich in diesem Falle handelt, einen noch höheren Löslichkeitsgrad aufweist. Für andere Körper, z. B. die Harnsäure, liegen in dieser Hinsicht bestimmte Angaben vor. Die 200—300 cbcm. betragende Flüssigkeitsmenge konnte

somit nach geringer Schätzung 0,2 gr. Xanthin enthalten, falls der Gehalt der Pulpa an Xanthin ein so grosser war.

Das weitere Verfahren Horbaczewski's bestand nun darin, dass er die erhaltene Lösung mit ammoniakalischer Silberlösung und Magnesia-Mixtur versetzte, den entstandenen und abfiltrirten Niederschlag nach gutem Auswaschen in der Wärme mit Schwefelnatrium zersetzte und vom Schwefelsilber abfiltrirte. Ebenso wie die Harnsäure geht hierdurch auch das Xanthin in die alkalische Lösung hinein. Letztere wurde dann mit Salzsäure angesäuert, eingedampft, das Abgeschiedene — von Horbaczewski als Harnsäure bezeichnet — hierauf abfiltrirt, mit Wasser, dann mit Alkohol, Schwefelkohlenstoff und Aether gewaschen und getrocknet. Mitunter wurde die Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung und Magnesia-Mixtur wiederholt.

Gerade dieses Ansäuren der Lösung nun und die folgenden zur Abscheidung der Harnsäure dienenden Manipulationen bilden einen recht kritischen Punkt. Ist die Lösung mit Salzsäure stark oder schwach angesäuert; ist alsbald nach dem Ansäuren abfiltrirt oder aber ist — was wahrscheinlich sein dürfte —, um eine möglichst vollständige Fällung der Harnsäure zu erzielen, mit dem Abfiltriren längere Zeit gewartet worden? Das sind Fragen, die von grösstem Einfluss auf das Resultat sind.

Leider sind die Angaben Horbaczewski's in diesen Punkten nicht detaillirt genug, um daraus mit positiver Bestimmtheit einen Schluss hinsichtlich des Resultates ziehen zu können. Folgende Versuche, die ich mit Xanthin anstellte, ergeben aber, dass das von Horbaczewski als Harnsäure angesprochene Product zum Theil aus Xanthin bestehen konnte.

Löst man Xanthin unter Zusatz von wenig NaOH in Wasser auf und fügt allmälig Salzsäure zu, so entsteht zunächst eine Fällung von Xanthin, die bei eingetretener Neutralität der Flüssigkeit nahezu vollständig ist. Bei weiterem Zusatz von Säure bemerkt man, dass das abgeschiedene Xanthin in der Kälte nur äusserst schwer wieder in Lösung geht. Es

bedarf eines relativ grossen Ueberschusses von Säure, um völlige Lösung herbeizuführen. In der Siedehitze tritt die Lösung zwar leichter ein, doch ist auch hier bei nur schwach sauren Flüssigkeiten u. U. eine völlige Lösung nicht möglich.

Wie schwierig das Xanthin selbst bei starkem Ansäuern von alkalischen Lösungen wieder in Lösung geht, ergeben folgende Versuche:

I. 0,303 gr. Xanthin wurden mit Hülfe von einigen Tropfen Natronlauge in 50 cbcm. Wasser gelöst, dann mit Salzsäure übersäuert, so zwar, dass nach erzielter Neutralität noch 5 cbcm. Salzsäure (spec. Gew. 1,19) zugefügt wurden: Es trat keine völlige Lösung ein, auch nicht, nachdem die Mischung bis auf 20 cbcm. eingedampft war. Die Menge des ungelöst gebliebenen betrug augenscheinlich ca. die Hälfte des angewandten Xanthins.

II. Eine heisse alkalische Xanthinlösung, hergestellt durch Lösen von 0,409 gr. Xanthin und 0,5 NaOH in 60 cbcm. Wasser, wurde mit soviel Salzsäure angesäuert, dass nach erfolgter Neutralität noch 5 cbcm. Salzsäure (spec. Gew. 1,19) zugegeben wurden. Auch hier trat keine völlige Lösung ein. Auf dem Wasserbade wurde die Mischung bis auf 20 cbcm. eingedampft, hierauf noch heiss filtrirt. Das ungelöst Gebliebene, auf gewogenem Filter gesammelt und nach gutem Auswaschen bei 110° getrocknet, betrug 0,18 gr. In dem Filtrate trat beim Erkalten eine weitere Abscheidung ein; nach 12 Stunden war die Menge des weiterhin abgeschiedenen Xanthins so beträchtlich, dass ich sie auf mindestens 0,1 gr. taxirte.

Ich habe bei diesen Versuchen absichtlich einen grossen Ueberschuss von Salzsäure angewandt, um zu zeigen, dass selbst dann die Lösung von Xanthin nicht leicht eintritt. Findet nur ein schwaches Ansäuern der Lösung statt, was vielleicht bei den Versuchen von Horbaczewski der Fall gewesen sein dürfte, so ist naturgemäss die Menge des Xanthins, welche abgeschieden bleibt, eine relativ bedeutend grössere, ja fast die ganze Menge des Xanthins kann ausfallen. Aus Versuch II ergibt sich auch, dass es von nicht unwesentlichem Einfluss für das Resultat ist, wann der entstandene Niederschlag abfiltrirt wird.

Da sich erfahrungsgemäss die Harnsäure, wenn sie aus alkalischer Lösung durch Säuren gefällt wird, erst allmälig abscheidet, so darf wohl angenommen werden, dass Horbaczewski, um eine möglichst vollständige Abscheidung der Harnsäure zu erzielen, mit dem Abfiltriren des Niederschlages einige Zeit gewartet hat. Ist dies nun geschehen, so werden sich mit der Harnsäure noch weiterhin relativ beträchtliche Mengen von Xanthin abgeschieden haben. Die Löslichkeit des Xanthins ist nämlich in der Kälte selbst in stark sauren Lösungen eine äusserst geringe, wie folgende Angaben zeigen:

In Xanthinlösungen, welche enthielten:

10 °/₀ HCl u. 2 pro Mille Xanthin erfolgte Ausscheidung nach 1 Tage,
10 °/₀ HCl u. 1,5 » » » » » » 1½ Tagen,
10 °/₀ HCl u. 1 » » » » » » 3 »

Dem evtl. Einwurf, dass Horbaczewski auch frische Milzpulpa allein in gleicher Weise auf Harnsäure prüfte, aber hieraus meist nur unwägbare Mengen isolirte, dass somit nach dem eingeschlagenen Verfahren kein Xanthin ausgefällt werden kann, begegne ich, indem ich darauf hinweise, dass mit grosser Wahrscheinlichkeit das Xanthin in der Pulpa sich zum grössten Theil erst durch die Digestion und den dadurch bewirkten grösseren oder geringeren Fäulnissgrad aus dem Nucleïn oder dem Guanin bildet (s. a. Schindler, diese Zeitschr., XIII, 441).

Ein zweiter Einwand, der gegen meine Ausführungen erhoben werden könnte, ist der, dass die Löslichkeitsverhältnisse eines unreinen Xanthins, um das es sich bei den Versuchen Horbaczewski's handelt, andere sind, als die eines völlig reinen Xanthins. Das zu meinen Versuchen angewandte Xanthin war ein völlig reines Präparat, welches ich nach der Vorschrift von E. Fischer aus dem Guanin dargestellt hatte. Allerdings hat man allen Grund anzunehmen, wie ich bereits Seite 635 hervorhob, dass der Löslichkeitsgrad eines unreinen Xanthins ein höherer ist, allein die Differenzen werden sich hier doch wohl nur innerhalb enger Grenzen bewegen. Aber selbst bei Annahme eines bedeutend höheren Löslichkeitsgrades des direct aus den Organen erhaltenen, nicht völlig reinen Xanthins erscheint nach meinen Darlegungen eine,

wenn auch nur geringe, Abscheidung von Xanthin bei der Versuchsanordnung von Horbaczewski wahrscheinlich. Da die Mengen der von Horbaczewski isolirten Producte in den einzelnen Fällen nur 0,04—0,143 gr. betragen, so genügt eben schon eine geringe Xanthinabscheidung, um die Richtigkeit der Versuchsresultate Horbaczewski's in Frage zu stellen.

Nach den gegebenen Erörterungen muss zumal im Hinblick auf die weitgehenden Schlussfolgerungen, die sich aus den Resultaten der Horbaczewski'schen Versuche ergeben, der Beweis verlangt werden, dass das nach dem eingeschlagenen Verfahren isolirte Product wirklich wesentlich aus Harnsäure bestand. In Anbetracht der nachgewiesenen grossen Wahrscheinlichkeit, dass nach der getroffenen Versuchsanordnung mit der Harnsäure zugleich Xanthin abgeschieden wird, bedarf es in jedem einzelnen Falle der Untersuchung, ob das isolirte Product nur aus Harnsäure besteht, oder ob ein Gemenge von Xanthin und Harnsäure, oder endlich ob vorzugsweise Xanthin vorliegt, dem nur Spuren von Harnsäure beigemengt sind.

Eine für diese Zwecke brauchbare Methode, die den Nachweis von Xanthin neben Harnsäure gestattet, gab es bisher nicht. Eine Kohlenstoff- und Stickstoffbestimmung wird, da Harnsäure und Xanthin nur eine Differenz von 3—4 °/₀ C und N aufweisen, nicht immer die gewünschte Aufklärung zu geben vermögen, zumal man nach dem Verfahren von Horbaczewski das abgeschiedene Product selbst — sei es nun Harnsäure oder ein Gemenge von Harnsäure und Xanthin — nicht analysenrein erhalten dürfte und ausserdem eine Mischung von Xanthin und Xanthinhydrochlorat dieselben Stickstoffzahlen ergeben kann wie die Harnsäure.

In der Ansicht nun, dass eine Methode Xanthin neben Harnsäure nachzuweisen, bezw. sie zu trennen, für die physiologische Chemie überhaupt von Werth sein muss, habe ich mich mit der Ausarbeitung einer solchen Methode befasst.

Ein charakteristischer Unterschied beider Körper ist das verschiedene Verhalten derselben zu heisser verdünnter Salpetersäure. Während das Xanthin sich gegen verdünnte Salpeter-

säure constant erweist, wird die Harnsäure hierdurch unter Bildung höherer Oxydationsstufen leicht zerstört. Auf diesem unterschiedlichen Verhalten beider Körper beruht die im Folgenden näher zu beschreibende Methode.

Um zunächst qualitativ Xanthin neben Harnsäure nachzuweisen, erwärmt man das vorliegende Product in einem kleinen Becherglase unter häufigem Umschütteln im Wasserbade mit verdünnter Salpetersäure, die auf 100 Theile H_2O 5 Theile HNO_3 (spec. Gew. 1,4) enthält. Die Gegenwart von Harnsäure macht sich alsbald durch die Entwickelung von Gasblasen bemerkbar. Hat diese aufgehört — ein Zeichen, dass die Zerstörung der Harnsäure beendet ist —, so kocht man kurze Zeit auf. Sind grössere Mengen von Xanthin vorhanden, so bleibt infolge der geringen Löslichkeit desselben in stark verdünnter Salpetersäure ein Theil ungelöst, so dass sich schon hierdurch die Gegenwart von Xanthin zu erkennen gibt. Ist die Menge des vorhandenen Xanthins aber gering, so tritt klare Lösung ein. Man macht alsdann die Mischung schwach ammoniakalisch, wobei zuweilen eine von Oxydationsprodukten der Harnsäure herrührende Rothfärbung eintritt, die aber allmälig, schneller beim Erwärmen, unter weiterer Zugabe von Ammoniak wieder verschwindet. Setzt man nun schwach ammoniakalische Silberlösung zu, so macht sich die Gegenwart von Xanthin an der flockenartigen voluminösen Ausscheidung von Xanthinsilber bemerkbar. Da letztere Verbindung in Ammoniak nicht ganz unlöslich ist, so vermeide man einen unnöthigen Ueberschuss. Ein geringer Ueberschuss von Ammoniak ist nothwendig, um nicht eventl. durch vorhandene Spuren von Salzsäure eine Fällung resp. Trübung zu erhalten. Salzsäure kann in dem Untersuchungsproduct in dem Falle vorhanden sein, wenn das Xanthin als salzsaures Salz zur Abscheidung gelangte; doch kann es sich dann immer nur um Spuren handeln, da infolge der grossen Neigung der Xanthinsalze zur Dissociation der grösste Theil der Salzsäure durch Auswaschen entfernt wird.

Sind nur äusserst geringe Mengen von Xanthin vorhanden, so erfolgt wegen der geringen Löslichheit des Xanthin-

silbers in Ammoniak die Abscheidung des Niederschlages erst nach einiger Zeit oder überhaupt nicht. In diesem Fall ist es nothwendig, das Ammoniak durch Salpetersäure nahezu vollständig abzustumpfen oder sogar zu neutralisiren. Eine ausfallende geringe Menge von Chlorsilber wird sich nach einiger Zeit fest zu Boden setzen, und man wird auch dann den gleichzeitig erfolgenden oder nach kurzer Zeit eintretenden voluminösen Niederschlag unschwer als aus Xanthinsilber bestehend erkennen können.

Tritt bei Zusatz der Silberlösung eine Silberreduction ein, die sich u. U. nur durch eine Gelbfärbung der Flüssigkeit zu erkennen gibt, so war die Menge der angewandten verdünnten Salpetersäure nicht ausreichend zur Oxydation der Harnsäure. Zweckmässig wendet man auf 0,1 gr. des Untersuchungsproductes 10 gr. der verdünnten Salpetersäure an.

Nach diesem Verfahren habe ich eine grosse Anzahl von Versuchen angestellt, für welche ich Gemenge von Xanthin und Harnsäure in den verschiedensten Verhältnissen anwandte. Ich führe hier nur einen Versuch an, aus dem hervorgeht, wie empfindlich der Nachweis des Xanthins neben Harnsäure ist:

Angewandt für den Versuch wurden 1 gr. Harnsäure, 0,005 gr. Xanthin und 100 gr. verdünnter Salpetersäure. In der schliesslich erhaltenen ammoniakalischen Flüssigkeit (ca. 120 gr.) trat nach Verlauf einiger Stunden die Fällung von Xanthinsilber mit grossen Deutlichkeit ein. Der Versuch zeigt, dass man nach der angegebenen Methode noch deutlich nachweisen kann, wenn der Harnsäure 0,5% Xanthin beigemengt sind.

Handelt es sich darum, quantitativ die Mengenverhältnisse von Xanthin und Harnsäure zu bestimmen, so kann man in der Weise verfahren, dass man das in möglichst schwach amoniakalischer Lösung abgeschiedene Xanthinsilber auf gewogenem Filter sammelt und nach gutem Auswaschen und schliesslichem Trocknen bei 120° zur Wägung bringt. Aus der Formel des Xanthinsilbers $C_{5}H_{4}N_{4}O_{2}Ag_{2}O$[1])

[1]) Ich stütze mich hier auf die Angaben Strecker's, nicht auf eigene Untersuchungen. Annal. d. Chem. u. Pharm., 108, S. 148.

berechnet man die Menge des Xanthins. Man kann auch den Niederschlag mit Filter glühen und aus der restirenden Silbermenge das Xanthin berechnen.

Sind grössere Mengen von Xanthin vorhanden, so empfiehlt es sich, einen andern Weg einzuschlagen. Nachdem man das Untersuchungsproduct in angegebener Weise mit Salpetersäure behandelt hat, macht man die Mischung schwach amoniakalisch und erwärmt kurze Zeit auf dem Wasserbade.

Das Xanthin geht hierbei gewöhnlich nur zum geringen Theil in Lösung. Man säuert nun mit Essigsäure an und fügt der Mischung das gleiche Volumen Alkohol zu. Nach Verlauf von 12 Stunden hat sich das Xanthin bis auf geringe Mengen, welche gelöst bleiben, abgeschieden, während die Oxydationsproducte der Harnsäure, Ammonium-Nitrat und Acetat in Lösung bleiben. Man sammelt den Niederschlag auf gewogenem Filter, wäscht ihn mit alkoholhaltigem Wasser aus und bringt ihn nach dem Trocknen bei 110° zur Wägung. Aus der so bestimmten Xanthinmenge kann man, wenn vorher das Gewicht von Harnsäure plus Xanthin bestimmt ist, indirect die Menge der Harnsäure berechnen.

Auf Vollkommenheit kann die Methode einen Anspruch nicht machen, doch sind die erhaltenen Resultate hinreichend genau, wie folgende Zahlen darthun:

	Angewandt:		Wieder erhalten:
I.	Xanthin	0,1545	Xanthin: 0,1475.
	Harnsäure	0,173	
II.	Xanthin	0,2505	Xanthin: 0,243
	Harnsäure	0,286	
III.	Xanthin	0,132	Xanthin: 0,126
	Harnsäure	0,15	
IV.	Xanthin	0,148	Xanthin: 0,1425.
	Harnsäure	0,172	

Trotz des Zusatzes von Alkohol bleiben also, wie die Versuche zeigen, einige Milligramm Xanthin gelöst (durchschnittlich 0,006 gr. in 100 gr. Flüssigkeit). Es scheint dies daran zu liegen, dass das aus ammoniakalischer Lösung durch

Essigsäure abgeschiedene Xanthin einen höheren Löslichkeitsgrad zeigt[1]).

Ich erhielt das Xanthin aus diesen Versuchen völlig rein wieder, wie folgende Stickstoffbestimmung zeigt: In 0,125 gr. des wiedererhaltenen Xanthins wurde der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt; verbraucht wurden zur Sättigung des Destillates 32,7 cbcm. $^1/_{10}$ N-Oxalsäure.

Berechnet für $C_5H_4N_4O_2$:	Gefunden:
36,84 % N.	36,62 % N.

Die gegebenen Erörterungen verdienen bei der Beurtheilung sämmtlicher Angaben über das Vorkommen der Harnsäure in thierischen Geweben berücksichtigt zu werden, da die Salzsäure-Fällung wohl in den meisten Fällen zur Gewinnung der Harnsäure benutzt worden ist.

---

[1]) Es liegen in dieser Hinsicht schon Angaben von Strecker und Scherer vor.

Selbstthätige Blutgaspumpe.

Von

A. Kossel und **A. Raps.**

(Der Redaction zugegangen am 15. Februar 1893.)

Die in dieser Abhandlung beschriebene Blutgaspumpe unterscheidet sich von den bisher für denselben Zweck construirten Apparaten dadurch, dass die Auspumpung selbstthätig erfolgt.[1]) Eine Ueberwachung dieses Theils der Operationen durch den Experimentator ist also überflüssig.

Das Princip, auf welchem die selbstthätige Bewegung des Quecksilbers beruht, ist von dem einen von uns, A. Raps, erfunden und vor zwei Jahren in den Annalen der Physik und Chemie mitgetheilt worden[2]). Die auf diesem Princip beruhende Quecksilberpumpe hat in grossem Maassstab Eingang in die Technik gefunden und dadurch ist es möglich geworden, die automatischen Theile so vollkommen zn gestalten, dass ihre Handhabung eine sehr sichere und bequeme ist.

Obwohl das automatische Getriebe mit dem früher beschriebenen (A. Raps l. c.) vollkommen übereinstimmt, geben wir doch eine erneute kurze Darstellung desselben, um eine Uebersicht über die ganze Blutgaspumpe möglich zu machen.

---

[1]) H. Kronecker (Zeitschr. f. Instrumentenkunde 1889, S. 280) und G. Hüfner (Ann. der Physik u. Chemie, N. F. I, S. 256, 1877) haben Pumpen beschrieben, bei welchen das Heben des Quecksilbers schon wesentlich erleichtert ist. Jedoch muss der Experimentator beständig zugegen sein.

[2]) Ann. Phys. Chem. N. F. XLIII, S. 629, 1891. — Zeitschrift für Instrumentenkunde 1891, S. 256.

Betreffs mancher Einzelheiten verweisen wir auf die früheren Beschreibungen des einen von uns.

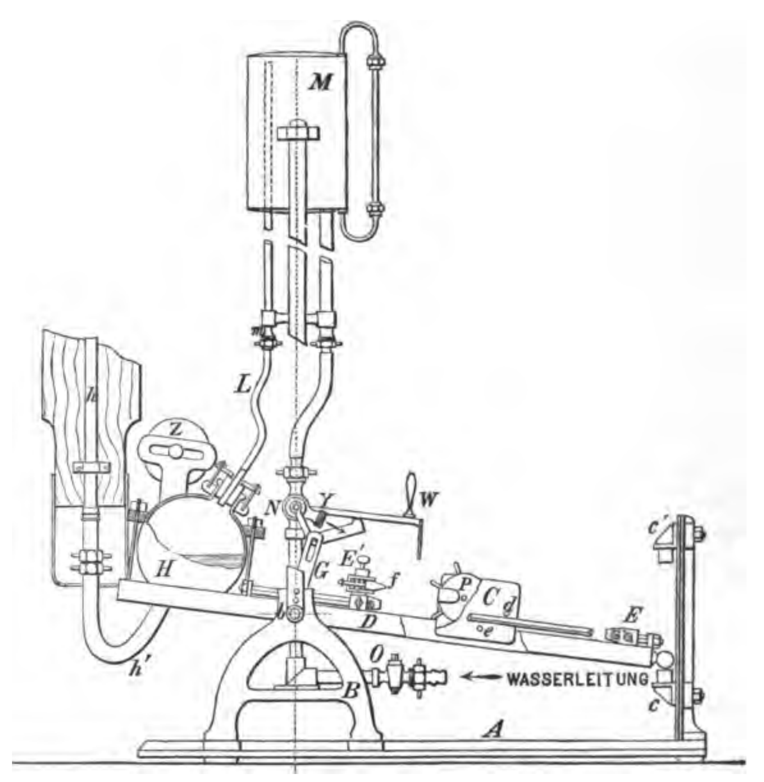


Fig. 1.

Dieser Theil der Pumpe ist in Fig. 1 dargestellt. Die Glaskugel H ist durch biegsame Schläuche mit der Pumpe, andererseits mit dem Windkessel M durch Vermittlung eines im oberen Theile desselben mündenden Rohres L in Verbindung. Die Glaskugel kann das Quecksilber aus der Pumpe in sich aufnehmen. In dem Boden des Windkessels mündet noch ein zweites Rohr, welches durch einen eigenthümlich construirten Dreiwegehahn N entweder Druckwasser aus der Wasserleitung zuströmen oder das in den Windkessel eingetretene Wasser ausströmen lässt. Ein Glasrohr zeigt den Stand des Wassers im Windkessel an.

Bei der ersten Stellung des Dreiwegehahns N bewirkt das Druckwasser, welches durch das Rohr O zuströmt, eine Verdichtung der Luft im Windkessel und treibt das Quecksilber aus der Glaskugel H in die Pumpe. Bei der zweiten Stellung des Hahns fliesst das Wasser durch einen an das Ansatzstück Y angefügten Schlauch aus dem Windkessel heraus. Der auf dem Quecksilber lastende Druck lässt nach und das Quecksilber fällt durch seine eigene Schwere aus der Pumpe in die Kugel H zurück. Man ist also im Stande, durch Drehung des Hahnes N das Quecksilber entweder in die Pumpe einströmen oder aus derselben austreten zu lassen.

Die Stellungen dieses Hahns werden nun durch folgende selbstthätige Vorrichtung verändert. Die Glaskugel H ruht auf der einen Seite einer aus einem Rahmen bestehenden Wippe D, deren andere Seite durch ein Laufgewicht C beschwert ist. Die Wippe wird in zwei Spitzenlagern getragen von dem Bock B, welcher sich auf dem eisernen Rahmen A erhebt. Die Bewegungen der Wippe werden durch zwei Gummipuffer c und c′, der Lauf des Gewichtes durch zwei verstellbare Anschläge E und E′ begrenzt. Wenn das Quecksilber bis zu einem bestimmten Niveau gesunken ist nnd die Hohlkugel bis zu einem bestimmten Gewicht beschwert hat, so ist das beim Anschlage E befindliche Laufgewicht C nicht mehr im Stande, der Kugel das Gleichgewicht zu halten. Die Wippe kippt nach der Seite der Kugel H über, zugleich bewegt sich das Laufgewicht nach E′ zu. In diesem Moment wird durch den an der Wippe befestigten Hebel G der Dreiwegehahn N in eine solche Stellung gebracht, dass nunmehr Druckwasser in den Windkessel eintritt, die Luft zusammendrückt und die Austreibung des Quecksilbers aus der Hohlkugel H bewirkt. Das Quecksilber steigt also in die Pumpe hinein und das Gewicht der Hohlkugel vermindert sich soweit, dass die Wippe nach einiger Zeit in die frühere Lage zurückfällt, dann bewegt sich das Laufgewicht wieder nach E zu. In demselben Augenblick verändert auch der Hebel G seine Stellung un bringt eine Drehung des Dreiwegehahns N hervor. Infolge dessen wird jetzt die Verbindung der Druckwasserleitung mit dem Windkessel aufgehoben und das Abflussrohr

mit dem Windkessel in Verbindung gesetzt. Indem das Wasser aus dem Windkessel abfliesst, strömt das Quecksilber in die Hohlkugel zurück, bis zu dem Zeitpunkt, wo das Gewicht dieser Hohlkugel die Wippe wieder zum Ueberkippen bringt. Durch Verschieben des Anschlags E kann man die Öffnungsdauer des Dreiwegehahns N und somit auch die Höhe bis zu der das Quecksilber in die Pumpe hineingetrieben wird, beeinflussen.

Folgende Momente wirken zusammen, um ein Stillstehen der Wippe in einer mittleren Stellung unmöglich zu machen.

1) Die an den Hebelarmen wirkenden Gewichte sind sehr gross, sodass die Reibung ihnen gegenüber wenig zur Geltung kommt; auch erleichtert das über der Wippe angebrachte feste Gewicht O das Umkippen, weil es das Gleichgewicht der Wippe und aller mit ihr verbundenen festen Theile zu einem labilen macht.

2) Während die Kugel H sich hebt, fliesst in Folge der Hebung des Quecksilberniveaus in H noch andauernd Quecksilber aus, ebenso strömt auch während des Sinkens von H Quecksilber hinein.

An diesen Automaten ist nun die eigentliche Blutgaspumpe (Fig. 2) angefügt. Dieselbe ist mit Benutzung des Töpler'schen Princips hahnlos construirt. Unser Streben musste dahin gerichtet sein, den Widerstand, der sich beim Durchdrücken der Gase durch das Röhrensystem bot, möglichst gering zu machen und auf diese Weise die Zeitdauer der Austreibung möglichst zu verkürzen.

Dies kann nur dadurch geschehen, dass das Gas in einem Raum S gesammelt wird, in welchem ein absolutes Vacuum oder wenigstens ein sehr geringer Druck vorhanden ist. Ausserdem wird die ganze Pumpe dadurch vorbereitet, dass durch eine an s″ angefügte Wasserstrahlpumpe der ganze Raum so weit als möglich evacuirt wird. Wir benutzten eine Körting'sche Wasserstrahlpumpe, welche den ganzen etwa 6 Liter betragenden Inhalt der Pumpe in 2 $^1/_2$ Minuten bis auf die Tension des Wasserdampfes entleerte.

Die Bewegung des Quecksilbers wird durch folgende Vorrichtungen geregelt.

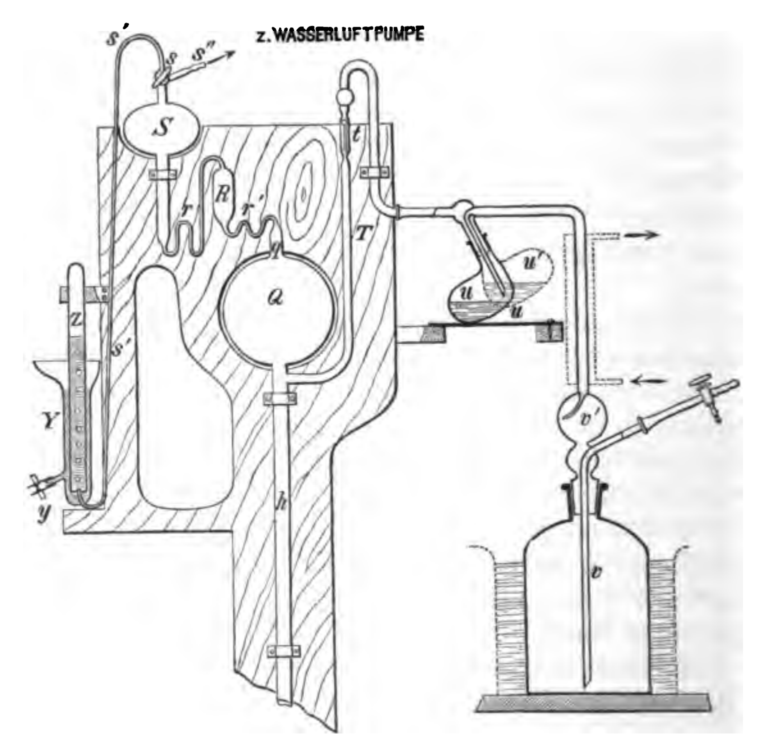


Fig. 2.

Zur Aufnahme des Quecksilbers dient die Pumpenkugel Q, welche durch das Rohr h und den Gummischlauch h′ mit der Kugel H (s. Fig. 1) in Verbindung steht. Die Kugel ist durch den Ansatz q verbunden mit den gebogenen Röhren r r′, welche nach dem Princip von Toepler einen Abschluss bewirken können. Andererseits zweigt sich von dem Rohr h das aufsteigende Rohr T ab, welches zur Waschflasche U und den Räumen v und v′ führt. Indem das Quecksilber beim Ansteigen die Pumpenkugel Q erfüllt, verdrängt es die Luft aus dieser, gleichzeitig steigt es in dem Rohr T auf, indem es die Verbindung zwischen T und Q aufhebt. Einem etwaigen Uebersteigen wird

ein Ziel gesetzt durch das Glasventil t. Andererseits erfüllt das Quecksilber die Räume r′, R, r und schiebt die Luft vor sich her, bis es in die Kugel S eintritt. Diese Kugel ist durch einen Dreiwegehahn s verschlossen, welcher einerseits den Weg s″ nach der Wasserstrahlpumpe öffnet, andererseits das Barometerrohr s′ mit der Kugel S in Verbindung setzt. Das Rohr s′ mündet im Boden eines Quecksilberbehälters Y, in welchen das mit Quecksilber gefüllte Absorptionsrohr Z eingesenkt wird.

Das in die Kugel S eintretende Quecksilber kann also die in S enthaltene Luft bei der ersten Stellung des Hahns s′ in das Absorptionsrohr Z oder bei anderer Stellung des Hahns durch das Rohr s″ aus dem Apparat heraustreiben. Wenn es sich nur um das Austreiben der atmosphärischen Luft aus der Pumpe handelt, bleibt die Verbindung von s mit s″ zunächst offen und die in s eingetretene Luft wird durch die Wasserstrahlpumpe abgesaugt.

Die Momente an der Wippe sind so bemessen, dass dieselbe umschlägt, sobald das Quecksilber in die Kugel S einzutreten beginnt, dann sinkt das Quecksilber wieder zurück. Der Quecksilberfaden reisst nun an zwei Stellen ab, in r und in r′. Es bildet sich also in den Räumen R′ und Q ein absolutes Vacuum, während in S in Folge der Wirkung der Wasserstrahlpumpe die Tension des Wasserdampfes herrscht. Sobald das Quecksilber in dem Rohr T bis zur Mündung von T in h gesunken ist, strömt aus den hinter dem Ventil gelegenen Theilen U, v, v′ Luft in die Pumpenkugel Q, unmittelbar darauf beginnt das Quecksilber wieder zu steigen und die Luft wird aus Q in den Raum S übergeführt. Jetzt dringt das Quecksilber wieder bis zur Mündung des Rohres r in S vor, dann sinkt es und das Spiel wiederholt sich.

Nachdem die grösste Menge der Luft fortgeschafft ist, setzt man noch eine Vorrichtung in Thätigkeit, die zur Beschleunigung des Auspumpens dient. Diese Vorrichtung bewirkt, dass nicht jedes bei einmaligem Heben des Quecksilbers gewonnene Luftbläschen für sich den Weg in die Kugel S zurückzulegen braucht. Vielmehr werden die Bläschen zunächst in R aufgefangen und nur die bei sechs

Hüben gesammelte Luft wird von R nach S befördert. Zu diesem Zweck ist das Laufgewicht C mit einem Rädchen P versehen, an welchem sich eine Aussparung befindet, die bei einer gewissen Stellung des Rädchens P in einen an dem Anschlage E′ befestigten hölzernen Zapfen f einfällt. Die Momente an der Wippe sind so gewählt, dass in diesem Falle die Öffnungsdauer des Hahns N (nach der Druckwasserleitung zu) lang genug ist, um ein Ansteigen des Quecksilbers bis zu dem Eingang in die Kugel S zu ermöglichen. Wenn hingegen bei einer andern Stellung des Rädchens P der Zapfen f gegen die Peripherie des Rädchens anstösst, so kann das Laufgewicht C nicht so nahe an die Achse der Wippe heranrücken als im ersten Fall. Die Öffnungsdauer des Hahns N ist jetzt eine kürzere und das Quecksilber treibt die Luft nur bis in den Raum R.

Zu Beginn der Auspumpung bleibt das Rädchen in der ersten Stellung und jede Luftblase wird für sich in den Raum S übergetrieben. Sobald die entleerten Luftblasen nur noch sehr gering sind, klappt man den in der Nähe des Hahns N angebrachten Hebel W herunter. Jetzt kann auch die Wasserluftpumpe abgestellt werden. Bei jeder achsenwärts gerichteten Bewegung des Laufgewichts schlägt einer der sechs Zapfen des Rädchens P gegen den Hebel W und es erfolgt eine Drehung des Rädchens um ein Sechstel des Kreises. Bei je fünf Stellungen des Rädchens stösst der Zapfen f gegen die Peripherie, bei jeder sechsten Bewegung des Laufgewichts fällt er in die Aussparung und nun erfolgt ein Uebersteigen der gesammelten Luftbläschen aus R nach S.

Sobald die Luft aus der Pumpe völlig entfernt ist, schafft man in dem Raum S ein absolutes Vacuum, indem man den Hahn s so dreht, dass die Verbindung von S nach s′ geöffnet, die nach s″ geschlossen ist und nun die in S enthaltene Luft durch die Barometerröhre s′ völlig hinaustreibt. Man kann dies leicht bewirken, indem man mit dem Fuss den die Kugel H tragenden Theil der Wippe niederdrückt, oder durch ein untergeschobenes Brett festhält; dann wird die Wippe am Umkippen verhindert und das

Quecksilber steigt so lange bis die Wippe losgelassen wird.[1]) Sobald die Luft aus der Kugel S und dem Barometerrohr s′ völlig herausbefördert ist, lässt man die Wippe fallen. Beim Zurücksinken des Quecksilbers bildet sich in S ein Vacuum, indem der Quecksilberfaden in dem Rohr s′ in Barometerhöhe abreisst.

Nun schliesst man den Hahn s sowohl nach s′ wie nach s″ ab, füllt das Gefäss Y mit Quecksilber an und taucht das mit Quecksilber gefülfte Rohr L so in die Wanne Y ein, dass es die aus s″ entleerten Gase aufnehmen kann. Nachdem man das überflüssige Quecksilber aus dem mit Kautschukschlauch und Quetschhahn versehenen Abfluss y herausgelassen hat und S mit s′ durch passende Drehung von s in Verbindung gesetzt hat, ist die Pumpe für die Aufnahme des Blutes bereit.

Zu diesem Zweck dient das Gefäss v, welches mit dem Blutgefäss in bekannter Weise (ev. unter Einschaltung eines Geppert'schen Messapparates) in Verbindung gesetzt wird. Wir haben einen flachen Boden gewählt, um eine schnelle Entleerung der Gase aus der dünn ausgebreiteten Blutschicht zu bewirken und einen Einschluss von Gas durch das eingetrocknete Blut möglichst zu vermeiden. (Zur Verhinderung des schnellen Eintrocknens kann auch das Rohr v′ mit einem Liebig'schen Kühler umgeben werden). Zum Trocknen der Blutgase dient die Waschflasche U, welche theilweise mit concentrirter Schwefelsäure gefüllt ist. Zu Anfang befindet sie sich in der Stellung U′. Dann muss das Gas durch die Schwefelsäure hindurchstreichen. Sobald in Folge der Entleerung der Gase der Druckunterschied der verschiedenen Theile des Apparates so gering geworden ist, das beim Sinken

[1]) Es ist zweckmässig, während dieser Manipulation den Zufluss des Druckwassers zu unterbrechen, wenn das Wasser bis zum oberen Ende des Wasserstandrohres im Windkessel M gestiegen ist, um ein Uebersteigen des Wassers aus dem Cylinder M in den Ballon H unmöglich zu machen. Der Druck der in M comprimirten Luft genügt dann auch ohne fortdauerndes Nachströmen von Wasser, um das Quecksilber bis zum Hahn s hinaufzutreiben.

des Quecksilbers keine Blasen mehr durch die Schwefelsäure hindurchstreichen, dreht man das Gefäss in die Lage U. Dann streicht die Luft an der Oberfläche der concentrirten Schwefelsäure vorbei. Jetzt ist das Blut auch schon soweit eingetrocknet, dass nur noch eine geringe Menge Wasser vorhanden ist, deren Absorption keine Schwierigkeiten bereitet. Die Ueberführung der Blutgase in den Raum S und aus diesem in das Rohr Z wird in der oben beschriebenen Weise bewirkt.

Ein bedeutender Vortheil der selbstthätigen Einrichtung ist der, dass die Räume v und v' sehr gross gemacht werden können, ohne dass die Mühe des Experimentators dadurch vermehrt wird. Die Entleerung nimmt in diesem Falle nur eine längere Zeit in Anspruch. Durch die Vergrösserung der Räume wird nicht nur eine schnellere Entleerung der Blutgase bewirkt, sondern auch die Gefahr des Ueberschäumens herabgesetzt [1]).

Physikalisches Institut und chemische Abtheilung des physiologischen Instituts in Berlin.

---

[1]) Der Preis dieser Blutgaspumpe ist noch nicht genau festgestellt worden, er wird, mit allem Zubehör, ungefähr 400 Mark betragen.

